

**EKSPLORASI BAKTERI RIZOSFER PADA TANAMAN
KUBIS DI UB *FOREST* DAN UJI KETAHANANNYA
TERHADAP INSEKTISIDA BERBAHAN AKTIF
KLORANTRANILIPROL**

Oleh

SHANTI DEWI PEBRIYANI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**EKSPLORASI BAKTERI RIZOSFER PADA TANAMAN
KUBIS DI UB *FOREST* DAN UJI KETAHANANNYA
TERHADAP INSEKTISIDA BERBAHAN AKTIF
KLORANTRANILIPROL**

Oleh:

SHANTI DEWI PEBRIYANI

145040201111146

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

PERNYATAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juli 2018

Shanti Dewi Pebriyani



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi Bakteri Rizosfer Pada Tanaman Kubis di UB
Forest dan Uji Ketahanannya Terhadap Insektisida
Berbahan Aktif Klorantraniliprol

Nama Mahasiswa : Shanti Dewi Pebriyani

NIM : 145040201111146

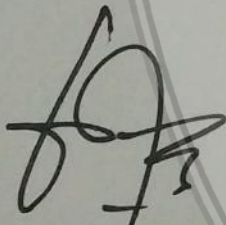
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

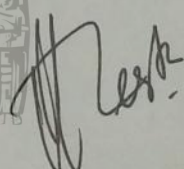
Program Studi : Agroekoteknologi

Pembimbing Utama

Disetujui

Pembimbing Pendamping


Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821 198002 1 002


Restu Rizkyta Kusuma, S.P. M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Diketahui,

Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

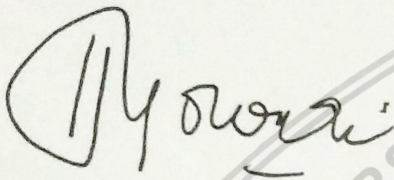
Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

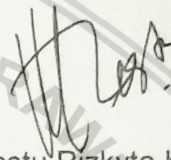
Disetujui

Penguji I

Penguji II



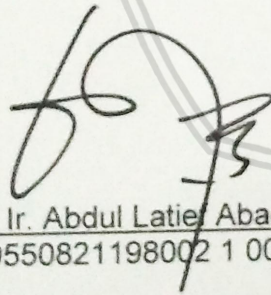
Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.
NIP. 19551212 198003 2 003



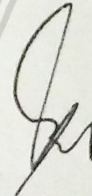
Restu Rizkyta Kusuma, S.P., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Penguji III

Penguji IV



Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821198002 1 002



Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus:

RINGKASAN

Shanti Dewi Pebriyani. 145040201111146. Eksplorasi Bakteri Rizosfer Pada Tanaman Kubis di UB Forest dan Uji Ketahanannya Terhadap Insektisida Berbahan Aktif Klorantraniliprol. Dibawah Bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. Sebagai Pembimbing Utama, dan Restu Rizkyta Kusuma, S.P., M.Sc. Sebagai Pembimbing Pendamping

UB Forest merupakan hutan pendidikan yang terdiri atas hutan konservasi dan hutan produksi. Jenis tanaman pada hutan produksi didominasi oleh pinus. Tanaman bawaan tegakan yang diusahakan oleh masyarakat setempat antara lain kopi, hortikultura dan tanaman obat-obatan. Lahan di UB Forest sering kali dialih fungsikan menjadi berbagai sistem penggunaan seperti lahan pertanian dan pemukiman yang menyebabkan terjadinya perubahan vegetasi. Kondisi lingkungan yang berubah akan mempengaruhi populasi, keanekaragaman dan aktivitas mikroba tanah. Tanah mengandung berbagai macam mikroba yang memiliki peranan penting. Salah satu mikroba yang berperan penting dalam menjaga kesuburan dan kualitas tanah adalah bakteri. Faktor yang mempengaruhi jenis dan jumlah bakteri rizosfer salah satunya input kimiawi. Input kimia yang digunakan oleh petani di UB Forest yaitu insektisida dengan bahan aktif klorantraniliprol. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengkaji kelimpahan bakteri rizosfer di UB Forest dan mengkaji pengaruh aplikasi insektisida dengan bahan aktif klorantraniliprol terhadap kelimpahan bakteri rizosfer.

Penelitian dilaksanakan dengan mengambil sampel tanah pada lahan dengan aplikasi insektisida dan tanpa aplikasi insektisida. Isolasi, purifikasi, dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Februari 2018 sampai dengan bulan Juli 2018. Metode pelaksanaan penelitian yang dilakukan meliputi survei lahan, eksplorasi bakteri rizosfer, komparasi dan karakterisasi bakteri secara biokimia dan fisiologi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa petani yang menerapkan lahan dengan aplikasi insektisida terdapat penambahan bahan masukan seperti pupuk NPK, dolomit, pupuk kandang, dan insektisida berbahan aktif klorantraniliprol. Lahan tanpa aplikasi insektisida petani menambahkan bahan masukan yaitu pupuk kandang dan pupuk daun saja. Intensitas serangan penyakit busuk hitam *Xanthomonas campestris* pada lahan yang diaplikasikan insektisida lebih tinggi yaitu mencapai 55%. Sedangkan pada lahan tanpa aplikasi insektisida intensitas serangan penyakit busuk hitam *X. Campestris* hanya 10%. Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan tanpa aplikasi insektisida lebih tinggi dibandingkan dengan lahan yang diaplikasikan insektisida yaitu sebesar $4,27 \times 10^{10} \text{ cfu/g}$ dan $2,67 \times 10^{10} \text{ cfu/g}$. Jumlah genus yang ditemukan pada lahan tanpa aplikasi insektisida yaitu 7 genus yang terdiri dari *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium* sp., dan *Bacillus* sp. Sedangkan pada lahan dengan aplikasi insektisida yaitu *Xanthomonas* sp., *Pantoea* sp., *Erwinia* sp., dan *Xylophilus* sp. Bakteri dominan yang ditemukan pada tiap lahan yaitu *Erwinia* sp, *Xanthomonas* sp dan *Pantoea* sp. Berdasarkan hasil uji peracunan insektisida pada ke 5 perlakuan pada berbagai konsentrasi didapatkan hasil yaitu keempat bakteri dominan mampu tumbuh pada konsentrasi tertinggi yaitu 2,5 ml/L. Bakteri yang mampu tumbuh pada media NA yang mengandung insektisida merupakan bakteri yang tahan dan tidak terpengaruh akibat adanya penambahan insektisida.

SUMMARY

Shanti Dewi Pebriyani. 145040201111146. Exploration of the Rhizosphere Bacteria on Cabbage in UB Forest and Resilience Against Chlorantraniliprole Active Compound. Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. as Main Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, S.P., M.Sc. as Co-Supervisor.

UB Forest is an education forest consisting of conservation and production forests. Plant species in production forests are dominated by pine. Plants under the stands cultivated by local communities were coffee, horticulture, and medicinal plants. Land in UB Forest often converted to various usage systems such as agricultural and settlements land that lead to vegetation change. Transition of environment condition will affect the population, diversity, and soil microorganism activity. Soil contains a variety of microorganisms that have an important role. One of the microorganism important role in maintaining soil fertility is bacteria. Factors that affect the type and number of rhizosphere bacteria is one chemical input. Chemical input used by farmers in UB forest is an insecticide with chlorantraniliprole active compound. The purpose of this research is to study the abundance of rhizosphere bacteria in UB forest and to study the effect of insecticide application with chlorantraniliprole active compound to rhizosphere bacteria.

The study was conducted by sampling soil on the land with the application of insecticide and without the application of insecticide. Isolation, purification, and bacteria identification were performed at the Plant Disease Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya. The study was conducted from February to July 2018. The method of conducting the research was land survey, exploration of bacteria, comparison and characterization of bacteria with biochemical and physiological procedure.

The results showed that farmers who apply the land with application of insecticide were add input materials such as fertilizer NPK, dolomite, manure, and insecticides with chlorantraniliprole active compound. Land without application of insecticide farmer add input material that is manure and leaf fertilizer only. The intensity of plant disease on the land applied insecticide is higher than that reach 55%. While on land without insecticide application, the intensity of plant disease reach 10%. The abundance of rhizosphere bacteria on the land without the application of insecticides was higher than that applied by insecticides is $4,27 \times 10^{10} \text{ cfu/g}$ and $2,67 \times 10^{10} \text{ cfu/g}$. The genus found on the land without application of insecticide were 7 genus consist of *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium* sp., and *Bacillus* sp. While on the land with the application of insecticides namely *Xanthomonas* sp., *Pantoea* sp., *Erwinia* sp., and *Xylophilus* sp. The dominant bacteria found on each land are *Erwinia* sp., *Xanthomonas* sp., and *Pantoea* sp. Based on the results of insecticide poisoning tests on the 5 treatments at various concentrations obtained the results of the four dominant bacteria capable of growing at the highest concentration of 2.5 ml/L. Bacteria capable of growing on NA media containing insecticides are resistant and unaffected bacteria due to the addition of insecticides.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas limpahan Rahmatdan Hidayah-Nya, sehingga laporan penelitian yang berjudul “Eksplorasi Bakteri Rizosfer Pada Tanaman Kubis di UB *Forest* dan Uji Ketahanannya Terhadap Insektisida Berbahan Aktif Klorantraniliprol”. Disusun dalam rangka memenuhi kewajiban Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya untuk menyelesaikan program sarjana (S1).

Pada kesempatan ini penulisingin menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS dan Restu Rizkyta Kusuma, S.P, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah memberikan dukungan, semangat, motivasi dan kesabarannya dalam membimbing penulis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. dan Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D. selaku dosen penguji atas saran, arahan dan nasihat. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT) serta seluruh dosen dan karyawan jurusan HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas bimbingan, fasilitas dan bantuan yang telah diberikan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada kedua orang tua saya tercinta Agung Priyambodo dan Magdalena Oktarika, kakak saya Shinta Dewi Agustyana dan adik saya tersayang Mochamad Raja Yudhistira atas doa, cinta dan kasih sayang serta dukungan yang telah diberikan. Serta seluruh teman-teman jurusan HPT yang telah memberikan dukungan dan masukan hingga penulisan skripsi ini selesai.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pemikiran bagi ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bojonegoro pada tanggal 27 Februari 1996 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara dari ayah yang bernama Agung Priyambodo dan ibu Magdalena Oktarika. Riwayat pendidikan penulis pernah sekolah di SDN Kepatihan Bojonegoro (2002-2008), sekolah menengah pertama di SMPN 5 Bojonegoro (2008-2011), sekolah menengah atas di SMA Negeri 4 Bojonegoro (2011-2014) dan mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang (2014-2018) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi (SNMPTN).

Selain menjadi mahasiswa penulis juga pernah mengikuti kepanitian Fresh (Festival Creations of Himadata) pada tahun 2015 dan TUNAS pada tahun 2016. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah ilmu dan Penyakit Tumbuhan pada tahun 2018. Pada tahun 2017 penulis melakukan kegiatan magang kerja di Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta.



DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	1
Latar belakang	1
Rumusan masalah	2
Hipotesis penelitian	3
Tujuan penelitian	3
Manfaat penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
Mikroorganisme tanah.....	4
Bakteri.....	5
Insektisida	8
Insektisida dalam tanah.....	9
Penyakit pada tanaman kubis	9
III. METODE PENELITIAN.....	12
Tempat dan waktu.....	12
Alat dan bahan	12
Metode penelitian	12
Persiapan penelitian	14
Pelaksanaan penelitian	14
Variabel penelitian.....	20
Analisis data.....	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
Kondisi actual lahan	23
Penyakit pada tanaman kubis	26
Isolasi dan kelimpahan bakteri rizosfer pada tanaman kubis	27
Karakterisasi bakteri hasil eksplorasi	29
Identifikasi bakteri rizosfer	37
Hasil pengujian bakteri rizosfer padai insektisida	41
Pembahasan umum	42
V. PENUTUP	47
Kesimpulan	47
Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
DAFTAR LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Klasifikasi bakteri pada setiap divisi.....	5
2.	Nilai scoring tingkat kerusakan tanaman	21
3.	Penelusuran budidaya tanaman	24
4.	Hasil perhitungan kelimpahan bakteri pada lahan tanpa aplikasi Insektisida dan insektisida.....	28
5.	Karakterisasi morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri	31
6.	Hasil identifikasi bakteri rizosfer pada lahan yang diaplikasikan Insektisida dan tanpa insektisida sampai tingkat genus.....	38
7.	Hasil pengujian ketahanan bakteri rizosfer terhadap insektisida Berbahan aktif klorantraniliprol pada inkubasi 24 jam	41
8.	Tabel perhitungan uji T pada kelimpahan bakteri rizosfer.....	49
9.	Hasil isolasi bakteri rizosfer	53
10.	Uji hipersensitif pada daun tembakau.....	53
11.	Karakteristik morfologi koloni bakteri	53
12.	Hasil pengujian Gram dengan pewarnaan pada bakteri	54
13.	Hasil pengujian Gram dengan kelarutan KOH 3%	54
14.	Hasil pengujian oksidatif fermentatif	54
15.	Hasil pengujian pada media YDC.....	54

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Struktur kimia klorantraniliprol	8
2.	Gejala serangan <i>X. campestris</i> pada kubis.....	10
3.	Gejala serangan <i>E. carotovora</i> pada kubis.....	11
4.	Prosedur penelitian	13
5.	Pembuatan plot pengamatan.....	14
6.	Metode pengambilan sampel tanah diagonal pada lahan yang diaplikasikan insektisida	15
7.	Metode pengambilan sampel tanah acak pada lahan tanpa insektisida	16
8.	Tanaman kubis yang terserang <i>X. campestris</i>	26
9.	Bakteri <i>Xanthomonas</i> sp	27
10.	Hasil isolasi pada pengenceran 10^8 pada media NA yang berumur 48 jam	28
11.	Koloni bakteri pada media NA umur 24 jam.....	30
12.	Hasil uji hipersensitif.....	33
13.	Pewarnaan gram.....	34
14.	Uji KOH 3%.....	34
15.	Pewarnaan spora	35
16.	Uji pertumbuhan pada media YDC	36
17.	Pengujian pigmen fluorescent	37
18.	Uji katalase.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

No	Teks	Halaman
1.	Uji anova kelimpahan bakteri rizosfer	53
2.	Karakterisasi bakteri hasil eksplorasi	53



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

UB *Forest* merupakan hutan pendidikan yang terdiri atas hutan konservasi dan hutan produksi. Jenis tanaman pada hutan produksi didominasi oleh pinus. Tanaman bawah tegakan yang diusahakan oleh masyarakat setempat antara lain kopi, hortikultura dan tanaman obat-obatan. UB *Forest* merupakan dataran tinggi yang terletak di lereng gunung arjuno dengan ketinggian 1400 m diatas permukaan laut (Kementrian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2016) dengan kondisi geologis yaitu tanah yang terbentuk dari letusan gunung berapi, sehingga tentu saja mikroorganisme yang terkandung didalamnya memiliki keunikan tersendiri.

Lahan di UB *Forest* seringkali dialih fungsikan menjadi berbagai sistem penggunaan seperti lahan pertanian dan pemukiman yang menyebabkan terjadinya perubahan vegetasi. Kondisi lingkungan yang berubah akan mempengaruhi populasi, keanekaragaman dan aktivitas mikroorganisme tanah (Bahig *et al.*, 2008). Tanah mengandung berbagai macam mikroorganisme yang memiliki peranan penting. Mikroorganisme tanah memiliki peran penting dalam mendegradasi senyawa kompleks dalam tanah bahkan senyawa yang sulit diserap oleh tanaman menjadi unsur-unsur yang tersedia bagi tanaman. Keberadaan mikroorganisme non patogenik didalam tanah menjadi salah satu indikator dalam menentukan indeks kualitas dan kesehatan tanah (Karlen *et al.*, 2006).

Mikroorganisme tanah yang berperan dalam menjaga kesuburan dan kesehatan tanah yaitu bakteri. Bakteri berperan dalam penyediaan unsur hara bagi tanaman, membantu proses dekomposisi bahan organik tanah (BOT) serta sebagai agens hayati dalam mengendalikan hama dan penyakit pada tanaman (Saraswati *et al.*, 2008). Bakteri bisa dijumpai di daerah rizosfer perakaran tanaman. Hal ini dikarenakan perakaran tanaman akan mengeluarkan eksudat akar dan serpihan tudung akar yang nantinya dimanfaatkan sebagai nutrisi bagi bakteri (Lugtenberg *et al.*, 1999). Jenis dan jumlah bakteri yang ada didalam tanah dipengaruhi oleh faktor fisik, kimia dan biologi tanah. Selain itu, praktik pengelolaan lahan seperti pemupukan, pemakaian pestisida dan praktik pertanian lainnya juga mempengaruhi populasi bakteri didalam tanah (Utomo, 2008).

Salah satu permasalahan yang ada di UB *Forest* adalah adanya budidaya hortikultura dimana petani mengaplikasikan pestisida dan pupuk kimia secara intensif untuk menghasilkan produktivitas tanaman yang tinggi. Jenis pestisida yang dipakai petani yaitu insektisida. Pengaplikasian insektisida dilakukan karena terjadi ledakan hama terutama ulat daun (*Plutella xylostela*) yang menyerang tanaman kubis sehingga berdampak pada turunnya kualitas dan kuantitas tanaman kubis. Terjadinya ledakan hama dan penyakit merupakan salah satu indikator rusaknya ekosistem. Walaupun pestisida dan pupuk kimia mampu meningkatkan produksi tanaman, namun juga memiliki dampak negatif terhadap pencemaran lingkungan antara lain kesuburan tanah menurun, pencemaran air dan tanah, bahaya residu pestisida serta berdampak terhadap penurunan keanekaragaman mikroorganisme didalam tanah (Susilawati *et al.*, 2013).

Penggunaan insektisida dan pupuk kimia yang diterapkan oleh petani menunjukkan bahwa belum terwujudnya sistem pertanian yang berkelanjutan. Salah satu indikator keberhasilan sistem pertanian yang berkelanjutan adalah tanah yang sehat. Hal ini berhubungan dengan kelimpahan bakteri yang menguntungkan dalam tanah. Keanekaragaman mikroorganisme penting dalam keseimbangan ekosistem dan kesehatan tanah dapat mempengaruhi kondisi tanaman yang tumbuh di atasnya (Bernadip *et al.*, 2014). Mikroorganisme yang menguntungkan dapat melindungi tanaman dari penyakit dengan menekan patogen tanah melalui sifat antagonisme (Hanafiah *et al.*, 2005). Semakin beragam mikroorganisme dalam tanah maka akan semakin banyak peluang mengendalikan patogen secara biologi.

Namun pengelolaan lahan yang tidak tepat seperti penggunaan insektisida dan pupuk kimia secara terus menerus dalam jangka waktu lama akan mengancam terciptanya sistem pertanian yang berkelanjutan. Sehingga peningkatan pengetahuan mengenai pengelolaan lahan dan dampak aplikasi insektisida yang berpengaruh terhadap kelimpahan bakteri di UB *Forest* perlu dikaji lebih mendalam.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian adalah bagaimana pengaruh aplikasi Insektisida berbahan aktif Klorantraniliprol terhadap kelimpahan bakteri rizosfer dan pengaruhnya terhadap bakteri yang menguntungkan pada lahan pertanian kubis di UB *Forest*.

1.3 Hipotesis

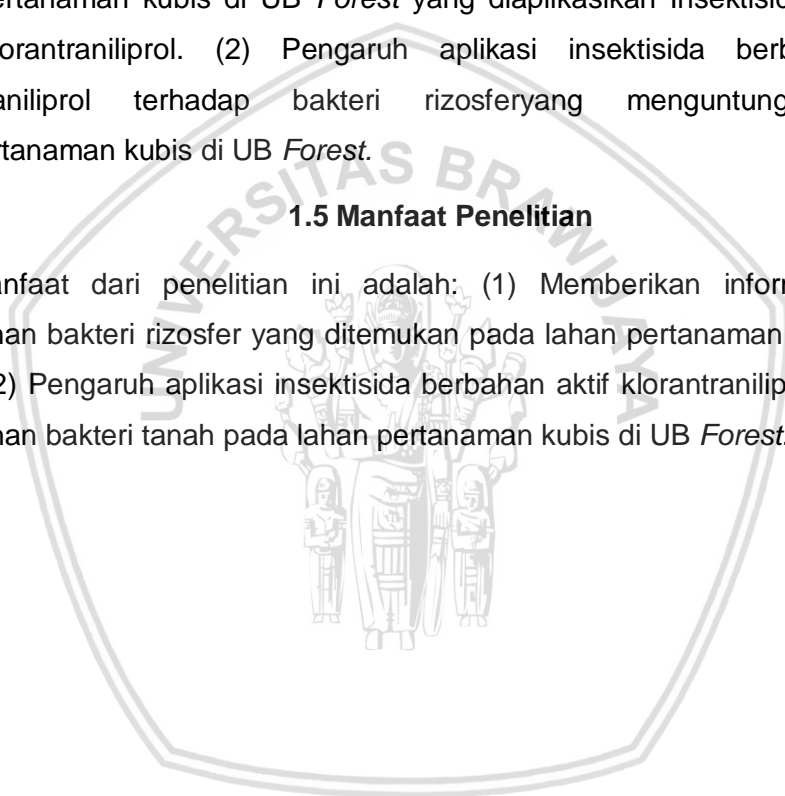
Hipotesis penelitian ini adalah kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan yang tidak diaplikasikan insektisida lebih tinggi daripada lahan yang diaplikasikan Insektisida berbahan aktif klorantraniliprol serta insektisida berbahan aktif klorantraniliprol dapat mempengaruhi bakteri yang menguntungkan pada lahan pertanian kubis.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah mengkaji: (1) Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan pertanian kubis di UB *Forest* yang diaplikasikan Insektisida berbahan aktif Klorantraniliprol. (2) Pengaruh aplikasi insektisida berbahan aktif Klorantraniliprol terhadap bakteri rizosfer yang menguntungkan pada lahan pertanian kubis di UB *Forest*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah: (1) Memberikan informasi terkait kelimpahan bakteri rizosfer yang ditemukan pada lahan pertanian kubis di UB *Forest* (2) Pengaruh aplikasi insektisida berbahan aktif klorantraniliprol terhadap kelimpahan bakteri tanah pada lahan pertanian kubis di UB *Forest*.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroorganisme Tanah

Tanah merupakan tempat hidup berbagai jenis mikroorganisme tanah seperti protozoa, fungi dan bakteri. Mikroorganisme tanah merupakan faktor penting dalam ekosistem tanah, karena berpengaruh terhadap siklus dan ketersediaan hara tanaman serta stabilitas struktur tanah. Secara umum fungsi mikroorganisme ada empat yaitu meningkatkan ketersediaan unsur hara tanaman didalam tanah, sebagai perombak bahan organik, bakteri rizosfer endofitik untuk memacu pertumbuhan tanaman dengan membentuk enzim dan melindungi perakaran dari hama penyakit tanaman (Saraswati *et al.*, 2008). Populasi mikroorganisme di dalam tanah dipengaruhi oleh tingkat kepekaan mikroorganisme, kesuburan tanah, kelembaban, serta intensitas cahaya. Populasi tertinggi mikroorganisme tanah pada umumnya berada pada lapisan rizosfer. Hal ini karena daerah rizosfer memiliki sumber karbon (C) yang tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroorganisme tanah (Widawati & Suliasih, 2006).

Ketersediaan unsur hara sangat berkaitan dengan aktivitas mikroorganisme yang terlibat didalamnya. Menurut Pelczar dan Chan (2006) Mikroorganisme di alam dibagi menjadi mikroorganisme simbiotik dan mikroorganisme nonsimbiotik. Mikroorganisme simbiotik hidup bebas dalam tanah dan memfiksasi nitrogen seperti *Clostridium pasturianum* dan *Azotobacter* sp. Sedangkan mikroorganisme nonsimbiotik berinteraksi dengan tanaman seperti bakteri rizosfer dan endofit. Organisme tanah tinggal di lapisan seresah organik atau lapisan permukaan tanah, dan horizon tanah yang lebih dalam. Distribusi vertikal dan horizon tanah biasanya dibatasi oleh temperatur, kandungan air dan tekstur tanah. Dalam hal ini kandungan bahan organik mengendalikan proses biotik tanah. Menurut Campbell *et al.*, (2003) Populasi mikrobiologis tanah terbagi dalam tiga golongan besar, yaitu:

- 1) Mikroorganisme *Autochthonous*: golongan ini dapat dikatakan sebagai mikroba setempat atau pribumi pada tanah tertentu, selalu hidup dan berkembang di tanah tersebut dan atau selalu diperkirakan ada ditemukan di dalam tanah tersebut.
- 2) Mikroorganisme *zimogenik*: golongan mikroba yang berkembang di bawah pengaruh perlakuan perlakuan khusus pada tanah, seperti penambahan bahan organik, pemupukan.

- 3) Mikroorganisme *transient* (penetap sementara): terdiri dari organisme organisme yang ditambahkan ke dalam tanah, secara disengaja seperti dengan inokulasi leguminosa, atau yang tidak secara disengaja seperti dalam kasus unsur unsur penghasil penyakit tanaman dan hewan, organisme ini kemungkinan akan segera mati atau bertahan untuk sementara waktu setelah berada di dalam tanah.

2.2 Bakteri

Bakteri termasuk dalam golongan prokariotik yaitu tidak mempunyai membran inti, materi inti tersusun dari materi sitoplasma. Bakteri merupakan organisme uniselular dengan tiga bentuk dasar yaitu berbentuk bulat, batang dan spiral. Pada umumnya, bakteri berukuran $1-5 \times 0,5-1 \mu\text{m}$. Bakteri mempunyai dinding sel yang mengandung peptidoglikan. Ciri dinding sel ini menentukan suatu bakteri termasuk gram negatif atau positif. Beberapa jenis bakteri bersifat motil (mampu bergerak) dengan menggunakan alat gerak yang disebut flagel. Bakteri melakukan reproduksi dengan melakukan pembelahan biner (Agrios, 2005). Pada umumnya bakteri di golongkan ke dalam empat divisi (Tabel 1) berdasarkan buku pedoman Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984).

Tabel 1: Klasifikasi bakteri pada setiap divisi

No	Divisi	Ciri Dinding Sel
1	Gracilicutes	Gram negatif, dinding sel dengan peptidoglikan tipis, dan mempunyai membran luar
2	Firmicutes	Gram positif, dinding sel dengan peptidoglikan tebal, dan tidak mempunyai membran luar
3	Tenericutes	Tidak memiliki dinding sel
4	Mendosicutes	Dinding sel tidak mengandung peptidoglikan

2.2.1 Bakteri Tanah

Bakteri dan aktinomicetes memiliki jumlah paling banyak dari kelompok mikroorganisme tanah dengan ukuran $1 - 10 \mu\text{m}$ dan menempati 50% dari total biomassa tanah (Collins dan Qualset, 1999). Bakteri memegang peranan penting dalam mendegradasi bahan organik dan siklus hara. Jumlah dan jenis bakteri yang ada didalam tanah dipengaruhi berbagai kondisi yang mempengaruhi kondisi pertumbuhannya, seperti temperatur, kelembaban, aerasi, sumber energi dan jenis praktik pengelolaan. Sejalan dengan pendapat Utomo (2008) Faktor

lain yang mempengaruhi populasi bakteri dalam tanah adalah pH, praktik pertanian, pemupukan, pemakaian pestisida dan penambahan bahan organik. Di alam, faktor faktor pertumbuhan utama yang membatasi adalah hara atau sumber energi. Beberapa bakteri membentuk spora bila keadaan menjadi tidak menguntungkan. Kebanyakan bakteri cukup resisten terhadap kekeringan, dan beberapa terdapat pada tanah kering udara selama beberapa tahun. Bakteri tanah banyak dijumpai di daerah Rizosfer. Rizosfer merupakan bagian tanah dimana terdapat lebih banyak bakteri yang hidup di sekitar perakaran. Hal ini dikarenakan perakaran tanaman akan mengeluarkan eksudat akar dan serpihan tudung akar yang nantinya dimanfaatkan sebagai nutrisi bagi bakteri Lugtenberg dan Kravchenko (1999).

Lingkungan rizosfer yang dinamis dan kaya akan sumber energi dari senyawa organik yang dikeluarkan oleh akar tanaman (eksudat akar) merupakan habitat bagi berbagai jenis mikroorganisme untuk berkembang dan sekaligus tempat persaingan mikroorganisme lainnya (Sorensen, 1997). Tiap tanaman mengeluarkan eksudat akar dengan komposisi yang berbeda-beda sehingga berpengaruh dalam meningkatkan perkembangan mikroorganisme tertentu dan menghambat perkembangan mikroorganisme lain (Chan *et al.*, 1963). Semakin banyak eksudasi akar akan semakin besar jumlah dan keragaman mikroorganisme.

2.2.2 Peran Bakteri Tanah

Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman

Salah satu peran bakteri tanah yang menguntungkan yaitu sebagai pelarut fosfat untuk memacu pertumbuhan tanaman. Bakteri pelarut fosfat (BPF) dapat menghasilkan fitohormon dan vitamin yang dapat membantu tanaman dalam pertumbuhan akar tanaman dan penyerapan hara tanaman (Glick, 1995 dalam Widawati dan Sulasih 2006). Bakteri ini memiliki kemampuan untuk melarutkan P yang terdapat di dalam tanah yang sebelumnya bersifat tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman. Selain itu fosfor berperan menyimpan dan mentransfer energi dan komponen protein serta asam nukleat.

Berbagai genus bakteri pelarut fosfat antara lain *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* and *Flavobacterium*. Dari berbagai bakteri tersebut yang memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat paling tinggi adalah genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* (Hilda, 1999). Rao (1994) menambahkan bahwa kemampuan dari

masing-masing bakteri dalam melarutkan fosfat anorganik beragam dan tergantung pada lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan bakteri tersebut. Salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri tersebut adalah keberadaan substrat eksudat. Eksudat yang dikeluarkan oleh akar tanaman akan mempengaruhi pula populasi dan keragaman mikroorganisme pelarut fosfat di tanah sekitar perakaran tanaman.

Bakteri tanah juga berpengaruh pada kesehatan tanaman dalam hal: (1) sebagai pemacu pertumbuhan (biostimulan) dengan mensintesis dan mengatur konsentrasi berbagai zat pengatur tumbuh (fitohormon) seperti asam insolat (AIA), giberelin, sitokinin dan etilen dalam lingkungan akar: (2) sebagai penyedia hara (biofertilizer) dengan menambat N_2 dari udara secara simbiosis dan melarutkan hara P yang terikat di dalam tanah: dan (3) sebagai pengendali patogen berasal dari tanah (bioprotektan) dengan cara menghasilkan berbagai senyawa atau metabolit anti patogen seperti siderophore, β -1,3-glukanase, kitinase, antibiotik dan sianida (Cattelan *et al.*, 1999).

Patogen Tanaman

Tanah pertanian tidak hanya menentukan tingkat kesuburan dan kelangsungan hidup tanaman yang diusahakan akan tetapi juga merupakan media tumbuh bagi berbagai macam mikroorganisme baik yang bermanfaat maupun yang merugikan tanaman yang diusahakan (Chet *et al.*, 2006). Salah satu bakteri yang berperan penting dan dapat menyebabkan penyakit pada tanaman seperti *Ralstonia solanacearum* yang merupakan patogen tular tanah yang menyebabkan penyakit layu pada family solanaceae. Patogen ini dapat bertahan pada bagian tanaman yang terinfeksi, selain itu patogen juga dapat bertahan pada beberapa inang alternative dan tanah (Agrios, 2005). Penyebaran patogen dapat melalui air irigasi, tanah yang mengandung inokulum ataupun alat-alat pertanian.

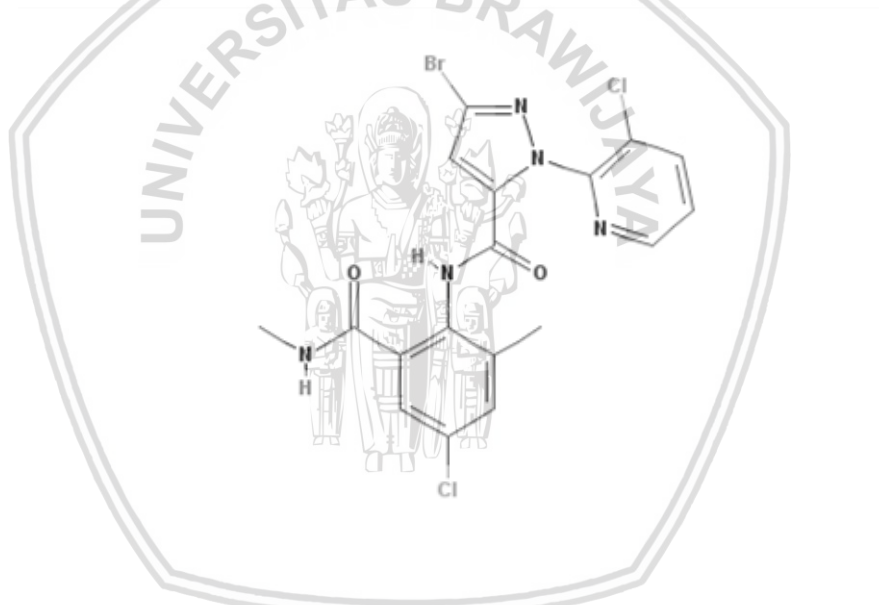
2.3 Insektisida

Insektisida adalah bahan yang mengandung senyawa kimia beracun dan bisa mematikan jenis serangga. Cara masuk insektisida ke dalam tubuh serangga sasaran dapat dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu sebagai racun perut, racun kontak, racun sistemik, fumigant, atraktan dan repellen (Setiadi, 2011). Insektisida merupakan kelompok pestisida yang terbesar dan terdiri atas beberapa sub kelompok kimia yang berbeda yaitu: Organoklorin, organofosfat, karbamat dan piretroid (Raini, 2007). Cara kerja insektisida dibagi

menjadi tiga yaitu sistemik, non sistemik dan sistemik lokal (Djojsumarto,2000). Bahan aktif insektisida yang digunakan petani yaitu klorantraniliprol.

2.3.1 Klorantraniliprol

Klorantraniliprol mempunyai nama kimia 3-bromo-*N*-[4-kloro-2-metil-6-[(metilamino) karbonilfenil]-1-(3 – kloro – 2 – piridinil - 1H – pirazol – 5 - karboksamida. Insektisida tersebut termasuk golongan senyawa antranilik diamida yang bersifat racun perut dan racun kontakWang dan Wu (2012). Klorantraniliprol bekerja mengganggu saraf otot dengan mengaktifkan reseptor rianodin serangga yang menyebabkan ion kalsium intraselular berkurang sehingga serangga mengalami kelumpuhan otot kemudian mengalami kematian (Perry *et al.*,1998). Gejala pada serangga akibat aplikasi insektisida klorantraniliprol yaitu paralisis, berhenti makan, dan mati dalam beberapa hari (Cordova *et al.*,2006).



Gambar 1. Struktur kimia klorantraniliprol (NCBI, 2016)

2.4 Insektisida dalam Tanah

Salah satu sumber utama pencemaran lingkungan khususnya didalam tanah yaitu disebabkan oleh insektisida. Aplikasi insektisida banyak dilakukan melalui penyemprotan, selain itu aplikasi lain bisa juga dengan cara penyebaran butiran, aplikasi langsung kedalam tanah, tumbuhan dan lain-lain. Dalam tanah, insektisida akan diserap oleh berbagai komponen lingkungan, kemudian terangkut ketempat lain melalui media air, angin atau jasad hidup Insektisida dalam tanah cenderung menumpuk pada permukaan tanah. Hal ini disebabkan lapisan atas tanah memiliki kandungan organik paling banyak sehingga

insektisida mudah teradsorpsi dan sukar keluar. Residu insektisida dalam tanah menunjukkan jumlah insektisida non mobile dari jumlah insektisida deposit. Hujan akan melepaskan insektisida ke air tanah (Tarumingkeng, 1992).

Jenis tanah berpengaruh terhadap adsorpsi insektisida. Tanah yang mengandung clay atau bahan organik tinggi, maka kapasitas adsorpsi insektisida pun tinggi. Pada tanah yang tidak mengandung mineral tinggi (moderately & very light soil), penurunan kelembaban akan meningkatkan kenaikan tingkat adsorpsi. Namun pada heavy soil, penurunan kelembaban akan menyebabkan penurunan konsentrasi molekul insektisida yang telah teradsorpsi. pH tanah mengatur tingkat adsorpsi insektisida. Semakin rendah pH, maka asiditasnya semakin tinggi. Asiditas yang tinggi mampu mengubah insektisida yang bermuatan negatif menjadi bermuatan positif. Tanah bermuatan negatif, maka insektisida yang bermuatan positif akan teradsorpsi (Permatasari, 2007).

2.5 Penyakit Tanaman Kubis

Tanaman kubis merupakan tanaman yang tergolong jenis hortikultura dan dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan pangan yang biasanya tumbuh baik pada dataran tinggi dan memiliki nilai ekonomi. Namun dalam budidayanya tak lepas dari organisme pengganggu tanaman (OPT) yang berdampak pada menurunnya kualitas dan kuantitas dari tanaman kubis. Menurut Rukmana (1994) macam penyakit pada kubis yang disebabkan oleh bakteri, yaitu:

1. Busuk Hitam

Busuk hitam disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* Dows. yang menyebar melalui *Seed borne*. Bakteri ini berbentuk batang, berukuran $(0,7-3,0) \mu\text{m} \times (0,4-0,5) \mu\text{m}$, membentuk rantai, berkapsula, tidak berspora, dan bergerak dengan satu flagelum polar.

Gejala serangan *X. campestris* pada tanaman kubis adalah mula-mula terdapat daerah-daerah yang berwarna kuning dan pucat di tepi-tepi daun, kemudian meluas ke bagian tengah. Di daerah ini tulang-tulang daun berwarna coklat tua atau hitam. Pada tanaman kubis dewasa, gejala khas yang terserang *X. campestris* ialah adanya bercak kuning yang menyerupai huruf V di sepanjang pinggir daun mengarah ke tengah daun. Pada serangan yang berat, seluruh daun menguning dan mudah luruh (gugur) sebelum waktunya. Pada penampang melintang tulang daun atau batang yang sakit tampak berkas pembuluh yang berwarna gelap. Jaringan helaian daun yang sakit mengering, menjadi seperti selaput, dengan tulang-tulang, daun berwarna hitam. Umumnya penyakit

menyerang mulai dari daun-daun bawah dan dapat menyebabkan gugurnya daun satu per satu. Penyakit ini dapat menyebabkan busuk kering, yang dalam keadaan lembab karena serangan jasad sekunder, dapat berubah menjadi busuk basah yang mengeluarkan bau tidak enak (Semangun,1989).



Gambar 2. Gejala serangan *X. campestris* pada kubis

Sumber :Sastrosiswojoet *al.*, (2005)

2. Busuk Lunak

Penyakit busuk lunak disebabkan oleh bakteri *Erwinia carotova*. Bakteri berbentuk batang yang berukuran $0,7\ \mu\text{m} \times 1,5\ \mu\text{m}$, mempunyai bulu cambuk 2,6 peritrich, tidak membentuk spora atau kapsula, bersifat Gram negatif, dan bersifat aerob fakultatif (Schaad et al.,2001). Bakteri menghasilkan enzim pektinase yang dapat menguraikan pektin yang berfungsi untuk merekatkan dinding-dinding sel. Dengan terurainya pektin, sel-sel akan lepas satu sama lain.

Gejala busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia sp* menurut Masao didalam Bintari (2015) yaitu Gejala busuk lunak yang terjadi pada kubis adalah berubahnya warna kubis menjadi lebih gelap yaitu kecoklatan. Kubis selanjutnya mengalami perubahan struktur menjadi lebih lembek serta ditandai dengan keluarnya cairan yang berwarna putih keruh dan berbau tidak sedap. Bagian tanaman yang terinfeksi/ luka akibat penyakit busuk lunak akan menjadi basah dan berair. Jaringan yang luka selanjutnya akan berwarna lebih gelap dibandingkan jaringan yang sehat. Infeksi selanjutnya akan menyebar sehingga tanaman busuk secara keseluruhan. Perubahan struktur jaringan tersebut disebabkan karena adanya aktivitas enzim pektolitik bakteri yang dapat menghancurkan material pengikat diantara sel. Jaringan yang rusak selanjutnya akan mengeluarkan cairan berwarna putih keruh.

Ketinggian tempat erat kaitannya dengan kelembaban udara, yang penting peranannya bagi perkembangan penyakit tanaman, terutama terhadap pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Kelembaban dan suhu dipengaruhi

oleh ketinggian tempat dan dapat memengaruhi permulaan dan perkembangan penyakit tanaman dalam banyak cara yang saling terkait. Infeksi tanaman ini dapat terjadi melalui luka pada pangkal bunga yang hampir siap panen. Lebih lanjut dikatakan Agrios (2005) Ketika *E. carotovora* masuk melalui luka atau lubang alami, tumbuh dan berkembang biak pada cairan yang dilepaskan oleh patahnya sel pada luka dan kemudian bakteri meningkatkan jumlah produksi enzim pectolytic yang merusak substansi pectic pada tengah lapisan tipis yang menyebabkan jaringan kehabisan nutrisi. Bakteri bergerak lagi dan berkembang biak di ruang antar sel, sebagai akibatnya sel mengalami plasmolysis atau kematian di ruang antar selnya Enzimnya bergerak untuk beralih pada jaringan yang lain.



Gambar 3. Gejala serangan *E. carotovora* pada kubis
Sumber: Sastrosiswojoet *al.*, (2005)

III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan dengan mengambil sampel tanah di Hutan Pendidikan UB Forest yang terletak di Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Malang dimana pada lokasi tersebut terdapat sistem agroforestri berbasis pinus, kopi, mahoni, dan tanaman hortikultura. Isolasi, purifikasi dan uji pestisida dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian dimulai pada bulan Februari hingga bulan Juli 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

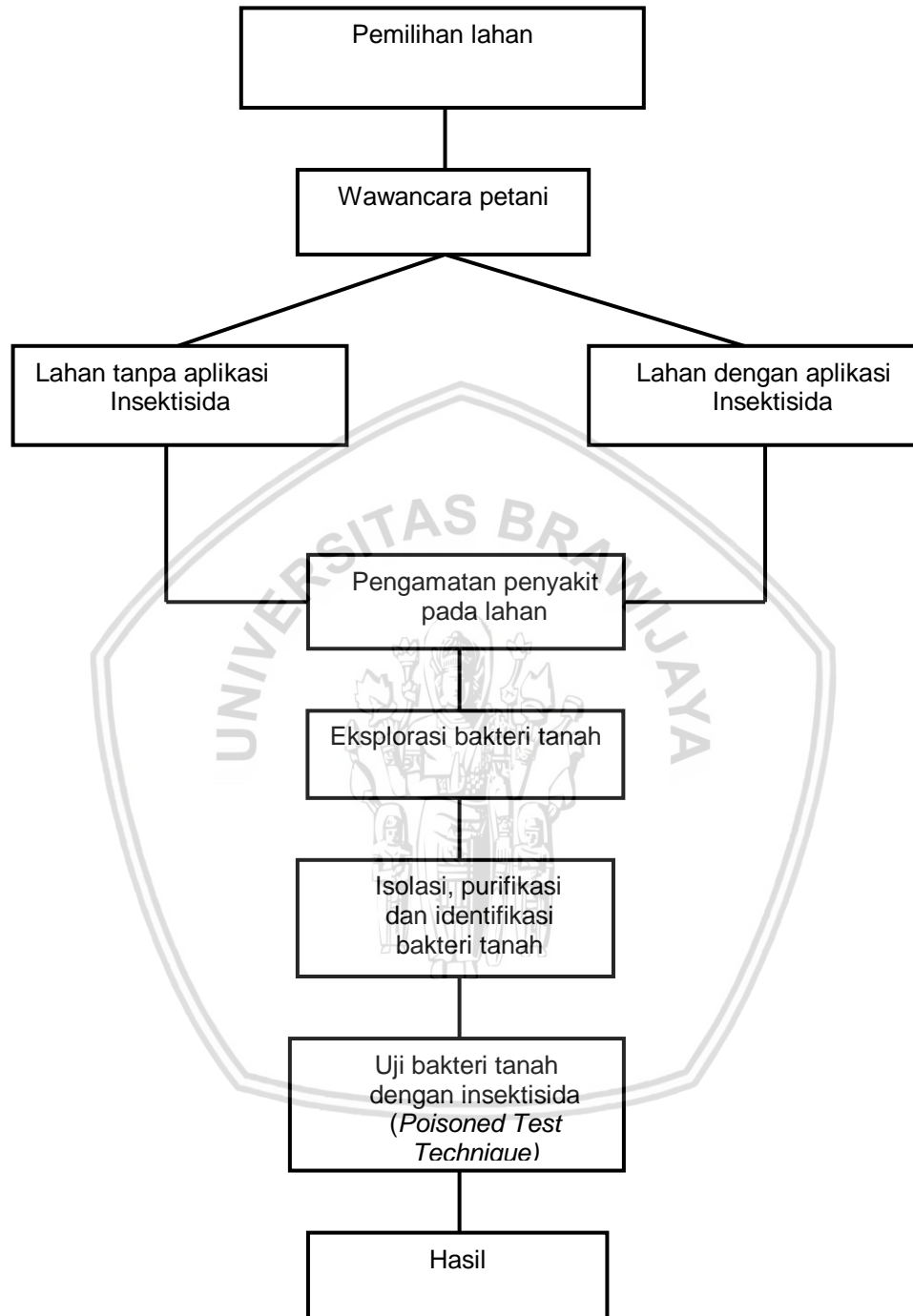
Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel tanah antara lain yaitu cetok, plastik klip, box es dan spidol permanent. Alat yang digunakan dalam isolasi, purifikasi dan identifikasi bakteri antara lain handsprayer ukuran 75 ml, cawan petri diameter 9 cm, tabung reaksi, stik L, jarum ose, tube ukuran 2 ml, gelas ukur 50 ml, tabung Erlenmeyer ukuran 250 ml, botol media ukuran 500 ml dan 1000 ml, beaker glass ukuran 500 ml, batang pengaduk, object glass, cover glass, micropipette ukuran 1000 μ l, pinset, Bunsen, korek api, autoclave, laminar air flow cabinet (LAFB), tali rafia ukuran 10 x 10 m, timbangan analitik, mikroskop compound perbesaran 400x (40 x 10) dan buku pedoman identifikasi bakteri menggunakan metode Schaad (2001) dan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Holtj *et al.*, (1994).

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain sampel tanah pada lahan pertanaman kubis yang diaplikasikan insektisida dan lahan tanpa aplikasi insektisida. Aquades steril, alkohol 70% dan 95%, aluminium foil, media Nutrient Agar (NA), larutan Kristal violet, safranin, iodine, larutan KOH 3%, larutan H₂O₂, Pepton bromethylen, paraffin, glukosa, tanaman tembakau, tissue, plastik wrapping, kertas label, plastik petromax, spiritus dan insektisida berbahan aktif klorantraniliprol.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode survei, eksplorasi dan komparasi. Survei dilakukan untuk mengetahui informasi terkait sejarah dan kondisi lahan berupa wawancara penelusuran budidaya dengan pemilik sekaligus petani setempat. Eksplorasi dilakukan dengan cara pengambilan sampel tanah untuk di isolasi, purifikasi bakteri, uji, identifikasi bakteri, pengamatan penyakit, analisa pestisida. Komparasi untuk membandingkan hasil

survey dan eksplorasi bakteri rizosfer yang didapat dari lahan tersebut. Alur metode pelaksanaan disajikan pada (Gambar 4).



Gambar 4. Prosedur penelitian

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Survei

Survei dilakukan pada lahan pertanian di UB *Forest* yang diperoleh melalui wawancara petani kubis meliputi sejarah lahan, pengolahan tanah, penanaman, perawatan dan panen setempat dengan menyiapkan kuisioner.

3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

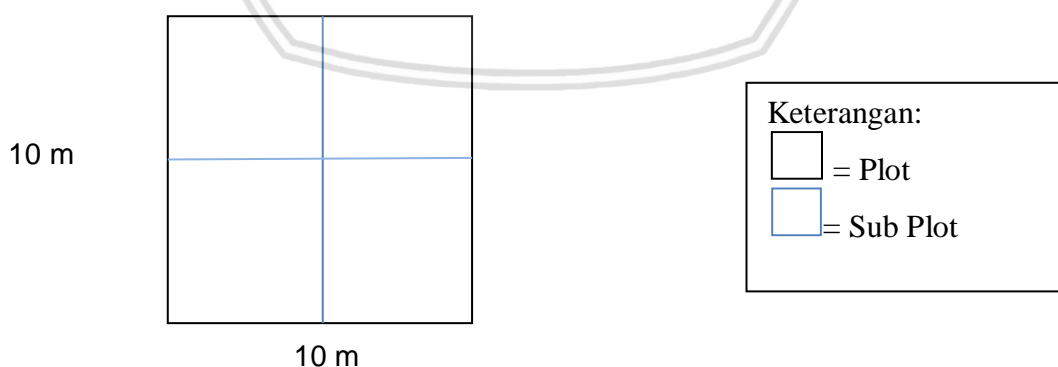
Menyiapkan semua alat dan bahan yang dibutuhkan untuk kegiatan eksplorasi antara lain isolasi, purifikasi, identifikasi bakteri tanah, pengamatan penyakit dan analisa pestisida. Bahan pengujian antara lain aquades dan tisu serta alat berbahan glassware terlebih dahulu di sterilisasi menggunakan autoclave selama 20 menit dengan suhu 121°C. Pembuatan media NA instan dengan cara melarutkan 20 gram NA kedalam aquades steril sebanyak 1 liter dan diaduk hingga NA tercampur merata, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Eksplorasi

1. Pembuatan Plot

Pembuatan plot dilakukan dengan cara membuat plot berukuran 10 x 10 m = 1000 m² pada setiap penggunaan lahan. Kemudian dibagi kedalam 4 kuadran sebagai sub plot supaya memudahkan dalam penentuan titik pengambilan sampel tanah.

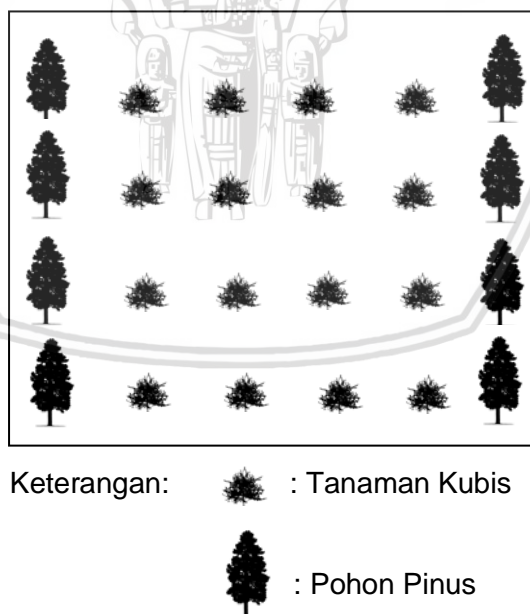


Gambar 5. Pembuatan plot pengamatan

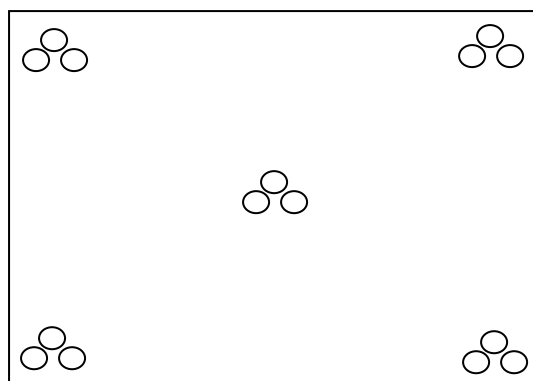
2. Pengambilan sampel tanah

Pengambilan sampel tanah pada masing-masing lahan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan, untuk isolasi bakteri tanah dan uji pestisida. Pengambilan sampel tanah pada lahan polikultur diambil menggunakan cetok dari permukaan tanah hingga kedalaman 15 cm pada area rizosfer tanaman (Rao, 1994). Alasan pengambilan sampel tanah pada kedalaman 15 cm yaitu keberadaan mikroba diperkirakan melimpah karena dekat dengan perakaran tanaman, semakin kedalam pengambilan sampel maka kelimpahan mikroba tanah semakin menurun.

Pengambilan sampel tanah pada lahan yang diaplikasikan insektisida menggunakan metode diagonal, sedangkan pengambilan sampel tanah pada lahan tanpa aplikasi insektisida menggunakan metode acak. Pada setiap lahan diambil 5 titik sampel kemudian dikompositkan berdasarkan ulangan dan dimasukkan kedalam kantong plastik berukuran 1 kg dan diberi label sesuai dengan titik tanah yang diambil. Supaya sampel tanah yang telah diambil tidak rusak ketika perjalanan menuju laboratorium, sampel tanah dimasukkan kedalam kotak es yang berisi es batu.



Gambar 6. Gambaran umum kondisi vegetasi pada lahan



Gambar 7. Skema pengambilan sampel tanah

3.5.2 Uji laboratorium bakteri tanah

a. Isolasi bakteri dari sampel tanah

Isolasi bakteri dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan atau memindahkan mikroorganisme dari lingkungannya sehingga diperoleh kultur atau biakan murni (Lim, 1990). Isolasi bakteri tanah dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat dengan mengambil sampel tanah daerah perakaran/rizosfer tanaman pada setiap lahan. Tanah ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan menambahkan aquades steril hingga mencapai 10 ml. Tanah dan aquades dicampur hingga homogen menggunakan vortex dengan kecepatan 500 rpm selama 8 menit. Suspensi yang didapat diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan menambahkan aquades steril 9 ml dan diencerkan hingga mencapai tingkat pengenceran 10^{-7} 10^{-8} 10^{-9} cfu per gram. Kemudian diantara ketiga faktor pengenceran tersebut diseleksi dan diambil faktor pengenceran terbaik supaya bakteri pada tingkat pengenceran tersebut dapat tumbuh dengan baik dan tidak berdekatan. Hasil pengenceran diambil 1 ml menggunakan mikropipet lalu dituang kedalam cawan petri yang berisi NA padat dengan diratakan menggunakan stik L dan cawan petri direkatkan menggunakan plastik wrap dan diinkubasi pada suhu ruang $27-28^{\circ}\text{C}$ selama 3-4 hari. Kegiatan ini dilakukan sampai 3 kali ulangan.

b. Purifikasi

Purifikasi dilakukan ketika ditemukan adanya ciri morfologi bakteri yang berbeda pada media NA. Koloni bakteri yang memiliki bentuk, pola persebaran dan warna berbeda tersebut kemudian diambil menggunakan jarum ose secara hati-hati. Koloni bakteri yang telah diambil menggunakan jarum ose tersebut kemudian dimurnikan kedalam media NA yang baru dengan cara menggoreskan

pada media tersebut. Purifikasi dilakukan didalam LAFC guna mencegah kontaminasi dari mikroorganisme lain. Hasil purifikasi kemudian direkatkan menggunakan plastik wrap dan diinkubasi pada suhu ruang 27-28 °C dan dilakukan pengamatan koloni meliputi warna, bentuk, tepian, tekstur dan elevasi.

c. Karakterisasi bakteri

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa metode Identifikasi bakteri pada bakteri yang ditemukan. Berdasarkan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001), isolat bakteri diuji secara biokimia dan fisiologi melalui serangkaian uji yang meliputi :

- Uji Gram

Uji Gram dengan KOH 3%, dilakukan dengan cara membuat larutan KOH 3% dengan mencampurkan 3 gram KOH padat dengan aquades steril sebanyak 100 ml lalu dihomogenkan. Biakan murni bakteri berumur 24 jam diletakkan pada gelas obyek yang sebelumnya telah ditetesi dengan larutan KOH 3%. Kemudian isolat bakteri tersebut disuspensikan dengan larutan KOH 3% dan ditarik keatas menggunakan jarum ose. Reaksi positif terjadi apabila suspensi bakteri ketika ditarik membentuk benang berlendir dan reaksi negatif terjadi apabila suspensi bakteri tersebut tidak membentuk benang berlendir. Reaksi positif menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam Gram negatif sedangkan reaksi negatif menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam Gram positif. Tidak terbentuknya lendir pada bakteri Gram positif karena dinding sel bakteri lebih resisten terhadap KOH sehingga dinding sel tidak pecah (Purwohadisantoso *et al.*, 2009).

Uji Gram dengan pengecatan Gram, dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut masuk kedalam bakteri Gram negatif atau Gram positif. Uji ini dilakukan dengan cara mengambil larutan aquades sebanyak 1 tetes kemudian diletakkan pada cover glass, isolat bakteri diambil sebanyak satu ose dan diletakkan pada cover glass berisi aquades tersebut lalu dikeringanginkan diatas Bunsen. Setelah kering, tetesi dengan Kristal violet dan bilas menggunakan air mengalir lalu keringanginkan lagi diatas Bunsen. Apabila telah kering, tetesi dengan iodine dan bilas lagi menggunakan air mengalir setelah itu keringanginkan diatas Bunsen. Setelah kering tetesi lagi menggunakan alkohol, kemudian dibilas menggunakan air mengalir dan dikeringanginkan diatas Bunsen. Setelah kering tetesi menggunakan larutan safranin, bilas menggunakan air mengalir dan keringanginkan diatas Bunsen. Bakteri Gram negatif tidak dapat

mempertahankan warna ungu dari Kristal violet tetapi zat safranin dapat terserap dinsic sel sehingga ketika dilihat dibawah mikroskop akan memperlihatkan warna merah, sedangkan kelompok bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari Kristal violet sehingga ketika diamati dibawah mikroskop akan menunjukan warna ungu (Pratita dan Putra, 2012).

- Pengecatan spora

Pengecatan spora dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri membentuk spora. Satu lup jarum ose biakan murni bakteri berumur 24 jam dihomogenkan dengan satu tetes aquades steril dan diletakkan diatas gelas obyek. Setelah itu dikeringkan diatas Bunsen. Kemudian ditetesi malachite green dan dibiarkan selama 15 menit lalu dicuci dengan air mengalir. Setelah itu dikeringkan lagi diatas Bunsen. Setelah dikeringkan, ditetesi dengan safranin dan didiamkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan diatas Bunsen. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Spora bakteri akan tampak berwarna kehijauan sedangkan sel vegetatifnya akan berwarna merah.

- Uji Katalase

Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan larutan H_2O_2 menggunakan pipet sebanyak satu tetes pada gelas obyek. Setelah itu letakkan satu lup biakan murni bakteri umur 24-48 jam lalu dihomogenkan. Apabila terdapat gelembung udara maka bakteri tersebut memiliki reaksi positif. Apabila tidak terjadi gelembung maka menunjukkan bakteri tersebut memiliki reaksi negatif terhadap O_2 . Uji katalase bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi oksigen dan air.

- Uji Oksidatif fermentatif

Pengujian ini dilakukan dengan cara menginokulasikan biakan murni bakteri umur 24-48 jam kedalam media basal yang telah diisi kedalam tabung reaksi. Media basal terdiri dari pepton 2 gr, NaCl 5 gr, KH_2PO_4 0,3 gr, Bacto agar 3 gr dan Bromothymol blue 1 % sebanyak 3 ml. Bahan-bahan tersebut dihomogenkan dalam 1 liter aquades dan diukur Ph 7,1 kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dan diatur tekanan $121^{\circ}C$ selama 20 menit. Setelah itu ditambahkan sebanyak 0,5 ml glukosa 10% steril secara aseptis. Selanjutnya, inokulasikan biakan murni bakteri umur 24-48 jam kedalam dua tabung reaksi yang berisi media basal tersebut menggunakan jarum ose, lalu satu tabung reaksi ditutup menggunakan water agar dan satu tabung lainnya tidak diberi water agar. Perubahan warna dari biru menjadi kuning pada media yang ditutup water

agar menunjukkan reaksi fermentatif. Hal ini dikarenakan bakteri mampu memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi. Apabila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada kedua media yang ditutup dan tidak ditutup water agar maka menunjukkan bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya apabila terjadi perubahan warna kuning hanya pada tabung yang tidak diberi water agar berarti hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif (Lelliot dan Stead 1987 dalam Masnilah 2013).

- Uji Pertumbuhan pada Media Yeast Dextrose CaCO_3 (YDC)

Pengujian YDC dilakukan untuk mengidentifikasi apakah bakteri yang tumbuh termasuk kedalam genus *Xylophilus* dan *Xanthomonas*. Media YDC terdiri dari yeast 10 gr, glukosa 20 gr, CaCO_3 20 gr, dan Bacto agar 15 gr. Selanjutnya semua bahan tersebut dilarutkan kedalam aquades 1 liter lalu dididihkan dan disterilkan dengan autoklaf dengan tekanan 121°C selama 20 menit. Kemudian mengambil biakan murni bakteri umur 24-48 jam lalu digoreskan pada media tersebut dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu $27-28^\circ\text{C}$. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri berwarna kuning pada media (Simatupang, 2008).

- Pigmen Fluorescent pada Media King's B

Biakan murni bakteri umur 24-48 jam ditumbuhkan pada media selektif King's B dengan cara digoreskan. Media King's B terdiri dari pepton 20 gr, K_2HPO_4 1,5 gr, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,5 gr, gliserol 15 ml dan bacto agar 15 gr. Selanjutnya semua bahan tersebut dilarutkan kedalam 1 liter aquades steril dan diaduk supaya homogen. Kemudian disterilkan dengan autoklaf dengan tekanan 121°C selama 20 menit. Kemudian biakan murni bakteri digoreskan pada media dan diinkubasi selama 24-48 jam. Selanjutnya biakan yang tumbuh pada media tersebut diamati dibawah sinar ultraviolet. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya pigmen fluorescent berwarna biru atau hijau yang berpendar.

d. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan untuk mengetahui bakteri yang bersifat patogenik dengan cara menyuntikan suspensi bakteri pada daun tembakau. Uji hipersensitif dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dan kontrol. Menurut Harahap (2013) Kemampuan bakteri menyebabkan penyakit bisa diketahui dengan menginduksi penyakit pada tanaman inang dengan menginfiltrasi bakteri kedalam tanaman inang atau dengan reaksi hipersensitif yaitu dengan diinfiltrasi bakteri pada tanaman bukan inang. Reaksi nekrotik akan terjadi pada tanaman tembakau

dalam 24 jam setelah inokulasi. Uji hipersensitif dapat digunakan untuk hampir semua bakteri patogen tanaman termasuk yang menyebabkan layu, nekrotik dan beberapa bakteri penyebab busuk lunak. Tanaman tembakau biasanya digunakan untuk uji hipersensitif karena daunnya mudah untuk diinfiltrasi dan tanaman mudah dipelihara pada kondisi laboratorium.

3.5.3 Pengamatan Penyakit

Pengamatan penyakit dilakukan pada lahan kubis yang diaplikasikan insektisida khususnya penyakit tular tanah (*soil born disease*). Lalu bagian tumbuhan yang terinfeksi penyakit dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi. Tahap identifikasi di laboratorium meliputi isolasi, purifikasi dan identifikasi.

3.5.4 Pengujian Insektisida

Pengujian insektisida dilakukan dengan metode peracunan makanan (*poisoned food technique*). Insektisida yang digunakan yaitu Dupon Prevathon berbahan aktif klorantraniliprol 50 g/l. Perlakuan yang digunakan untuk pengujian insektisida terdapat 6 jenis diantaranya sebagai berikut:

a. Insektisida bahan aktif klorantraniliprol

K: Tanpa insektisida

P1: Perlakuan konsentrasi 0,5 ml/L

P2: Perlakuan konsentrasi 1 ml/L

P3: Perlakuan konsentrasi 1,5 ml/L

P4: Perlakuan konsentrasi 2 ml/L

P5: Perlakuan konsentrasi 2,5 ml/L

Keterangan: K= Kontrol; P1= Perlakuan 1; P2= Perlakuan 2; P3= Perlakuan 3; P4= Perlakuan 4; P5= Perlakuan 5.

Setiap perlakuan insektisida yang digunakan dihomogenkan dalam media NA cair. Setelah itu media cair tersebut dituangkan kedalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat. Setelah padat, goreskan biakan murni bakteri umur 24-48 jam pada media tersebut kemudian diamati.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Pengujian Insektisida

Pengujian di laboratorium dilakukan dengan teknik makanan beracun (*Poisoned food technique*). Insektisida yang digunakan yaitu dengan bahan aktif klorantraniliprol 50 g/l. Pengujian insektisida dilakukan dengan cara bakteri

dominan yang telah diidentifikasi kemudian di streak pada media NA yang mengandung insektisida. Setelah itu diamati pertumbuhannya hingga 7 hari.

3.6.2 Kelimpahan Bakteri

Variabel pengamatan pada pengujian ini merupakan data kuantitatif. Total koloni bakteri dihitung setelah masa inkubasi bakteri pada media NA selama 48 jam pada suhu ruang. Sampel yang dihitung yaitu pada bakteri yang dibiakkan pada media NA dengan hasil pengenceran yang telah didapatkan. Total koloni yang dapat dihitung pada media NA adalah koloni dengan jumlah 30-300. Perhitungan total koloni dapat dihitung menggunakan rumus Fardiaz (1992):

$$\text{Kelimpahan Bakteri (cfu/g)} = \frac{\sum \text{Koloni terhitung}}{\text{Berat tanah (g)}} \times Y$$

Keterangan:

Y= Faktor pengenceran x Volume sampel tanah

3.6.3 Indeks Penyakit

Tanaman juga berpeluang dalam serangan patogen. Patogen terdiri dari jamur, bakteri, virus dan nematoda. Kejadian penyakit pada tanaman melalui beberapa siklus yaitu inokulasi (penularan), penetrasi (masuk tubuh), infeksi (pemanfaatan nutrisi tanaman inang), invasi (perluasan serangan ke jaringan lain) dan dispersi (penyebaran ke tempat lain). Pengamatan penyakit di lahan pertanian yang diaplikasikan insektisida dan tanpa insektisida digunakan untuk mengetahui intensitas serangan penyakit pada tanaman kubis. Indeks penyakit dihitung dengan menggunakan rumus skoring sebagai berikut:

Tabel 2. Nilai Skoring Tingkat Kerusakan Tanaman

Nilai	Tingkat Kerusakan Tanaman (%)	Kategori Serangan Penyakit
0	0	Tidak ada serangan
1	1-25	Intensitas serangan sgt ringan
2	26-50	Intensitas serangan ringan
3	51-75	Intensitas serangan sedang
4	76-100	Intensitas serangan tinggi

Hasil skoring serangan kemudian dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$I = \sum n_i \times v_i / n \times z \times 100 \%$$

Keterangan:

I = Intensitas serangan

n= Jumlah daun tiap kategori serangan

v= Nilai skala dari kategori serangan

z= Nilai skala dari kategori tertinggi

n= Jumlah daun yang diamati

3.6.4 Karakterisasi Bakteri Rizosfer

Identifikasi bakteri rizosfer sampai tingkat genus dilakukan meliputi serangkaian karakterisasi menurut pedoman Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.*, (2001) yang meliputi karakterisasi fisiologi yaitu uji hipersensitif, karakterisasi morfologi meliputi pengamatan warna, bentuk, tepian dan elevasi koloni serta karakterisasi biokimia yang meliputi pengujian Gram, uji KOH 3%, uji katalase, uji pertumbuhan pada media YDC, Uji produksi pigmen fluorescens pada media King's B, Uji pengecatan spora dan uji perlakuan pada suhu 33°C.

3.7 Analisis Data

Analisis hasil dari kelimpahan bakteri rizosfer yang ditemukan yaitu dengan menggunakan uji independent sample T test dengan membandingkan hasil dari kedua lahan dan pengolahan data menggunakan Microsoft excel 2010.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Aktual Lahan

Kondisi aktual lahan pengambilan sampel tanah bagian rizosfer tanaman kubis yang berada di kawasan hutan pendidikan UB *Forest*. Berdasarkan hasil survei dan wawancara, petani lebih banyak menerapkan sistem pertanian dengan lahan konvensional daripada lahan ramah lingkungan dikarenakan produktivitasnya tinggi dan umur panen yang singkat. Letak lahan kubis yang diaplikasikan insektisida yaitu pada koordinat $7^{\circ}82'44.45''\text{LS}$ dan $112^{\circ}57'8''30,4\text{LU}$ dengan ketinggian 1078 mdpl dan luas lahan yaitu 5000 m^2 sedangkan lahan kubis yang tidak diaplikasikan insektisida yaitu pada koordinat $7^{\circ}82'19.77.7''\text{S}$ dan $112^{\circ}57'50''50,5\text{LU}$ dengan ketinggian 1048 mdpl dan luas 2500 m^2 . Kedua lahan tersebut memiliki perbedaan yaitu bahan masukan atau input budi daya dan perlindungan tanaman dari organisme pengganggu tanaman (OPT). Pada lahan yang diaplikasikan insektisida menggunakan pupuk NPK, pupuk kandang, dolomit, dan mengaplikasikan insektisida berbahan aktif klorantraniliprol. Lahan tanpa insektisida menggunakan pupuk kotoran ayam dan pupuk daun.

Sejarah ke dua lahan sebelum ditanami komoditas hortikultura, lahan tersebut ditanam komoditas perkebunan yaitu kopi. Berdasarkan hasil wawancara dengan petani, pergantian komoditas tanam dikarenakan adanya kebijakan dari pihak UB *Forest* dimana mengharuskan setiap petani yang menanam komoditas kopi yang termasuk kedalam kawasan UB *Forest* untuk menyerahkan hasil produksi panen kopi mereka sebesar 30 % kepada pihak UB *Forest*. Dengan umur panen yang terlalu lama yaitu satu tahun sekali serta hasil panen yang tidak begitu besar dan tidak sebanding dengan begitu tingginya biaya untuk perawatan tanaman kopi, membuat petani akhirnya memutuskan untuk mengganti tanaman kopi mereka dengan tanaman hortikultura dengan alasan tidak mau merugi. Selain itu, adanya tanaman Pinus menyebabkan hasil produksi kopi menurun. Dengan adanya tanaman Pinus yang tinggi, menyebabkan tanaman kopi tidak mendapatkan sinar matahari yang cukup karena terhalang oleh Pinus, sehingga menyebabkan tanaman kopi rentan terserang penyakit karat daun yang berdampak pada menurunnya kualitas dan kuantitas tanaman kopi mereka. Hasil survei dan wawancara dengan petani kubis di UB *Forest* secara lengkap disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3: Penelusuran Budidaya Tanaman

No	Teknik Budidaya	Lahan Kubis yang Diaplikasikan Insektisida	Lahan Kubis Tanpa Insektisida
1.	Sejarah lahan	<ul style="list-style-type: none"> Lahan seluas 5000 m² berada di kawasan UB <i>Forest</i>. Awalnya ditanami komoditas kopi. Kemudian pada tahun 1981 petani beralih bertanam komoditas hortikultura seperti kubis, sawi dan kol. 	<ul style="list-style-type: none"> Lahan seluas 2500 m² berada di kawasan UB <i>Forest</i>. Awalnya ditanami komoditas kopi. Dikarenakan kopi sudah tidak produktif dan banyak terserang penyakit maka petani mengganti komoditas hortikultura.
2.	Penanaman	<ul style="list-style-type: none"> Petani menanam benih kubis dengan membeli ditoko pertanian dengan harga Rp 1000 per biji. Petani menyewa tenaga kerja dengan upah Rp 50.000 per 8 jam kerja. 	<ul style="list-style-type: none"> Petani menanam sendiri benih kubis yang dibeli di toko pertanian karangploso.
3.	Varietas	<ul style="list-style-type: none"> Varietas yang digunakan yaitu Grand 11 	<ul style="list-style-type: none"> Varietas yang digunakan yaitu Grand 12
4.	Pengolahan tanah	<ul style="list-style-type: none"> Pengolahan tanah menggunakan cangkul. 	<ul style="list-style-type: none"> Pengolahan tanah menggunakan cangkul.
5.	Pemupukan	<ul style="list-style-type: none"> Pemupukan menggunakan pupuk NPK, pupuk kandang dan setiap musim tanam dilakukan pengapuran dengan menebar dolomite atau kalsit pada tanah. Kemudian dibiarkan selama 7 hari, setelah itu benih kubis baru ditanam. 	<ul style="list-style-type: none"> Pemupukan menggunakan pupuk kandang dan pupuk daun.
6.	Pengairan	<ul style="list-style-type: none"> Pengairan menggunakan sistem tadah hujan .apabila musim kemarau petani memanfaatkan sumber air Arjuno yang disalurkan melalui pipa kecil. 	<ul style="list-style-type: none"> Pengairan menggunakan sistem tadah hujan.
7.	Hama yang menyerang	<ul style="list-style-type: none"> Ulat daun dan belalang daun. 	<ul style="list-style-type: none"> Ulat daun dan belalang daun.
8.	Penyakit yang menyerang	<ul style="list-style-type: none"> Bercak daun dan busuk daun. 	<ul style="list-style-type: none"> Bercak daun dan busuk daun.
9.	Caramengatasi OPT	<ul style="list-style-type: none"> Cara mengatasi hama pada kubis yaitu dengan menyemprotkan insektisida berbahan aktif klorantraniliprol setiap 2 	<ul style="list-style-type: none"> Cara mengatasi hama dan penyakit petani langsung mengambil hama dan tanaman kubis yang terserang penyakit .

	minggu Sedangkan untuk mengendalikan penyakit , petani memotek atau mengambil bagian kubis yang terserang terkadang juga dibiarkan saja.	sekali.
10. Penyiangan gulma	• Penyiangan gulma dengan mengambil secara manual.	• Penyiangan gulma dengan mengambil secara manual. Selain itu petani juga menggunakan mulsa untuk menekan pertumbuhan gulma.
11. Pemanfaatan sisa panen	• Sisa panen tidak digunakan melainkan langsung dibakar.	• Sisa panen tidak digunakan melainkan langsung dibakar.
12. Produktivitas	• Kubis dipanen ketika berumur 36 HST. Dengan produktivitas 6-7 Ton per luasan lahan yaitu 5000 m ² .	• Kubis dipanen ketika berumur 36 HST. Dengan produktivitas 2-3 ton per luasan lahan yaitu 2500 m ² .

Kedua lahan kubis diolah dengan cara tradisonal menggunakan cangkul yang bertujuan untuk menggemburkan tanah. Perbedaan dari lahan kubis yang diaplikasikan insektisida dengan lahan tanpa insektisida yaitu terletak pada pengolahan lahan, pemupukan dan pengairan. Bahan masukan pada pengolahan tanah pada lahan kubis yang diaplikasikan insektisida yaitu dengan memberi bahan masukan pupuk NPK untuk menambah unsur hara tanah, pupuk kandang dan dolomit. Pemberian dolomit bertujuan untuk menetralkan pH tanah. Pengapuran menggunakan dolomit dilakukan satu kali selama satu musim tanam ketika pengolahan tanah. Setelah diberikan dolomit dibiarkan selama 7 hari yang kemudian benih mulai ditanam. Untuk mengendalikan OPT petani juga mengaplikasikan insektisida berbahan aktif klorantraniliprol setiap 2 minggu sekali. Sedangkan pada lahan kubis tanpa insektisida diberikan bahan masukan yaitu pupuk kandang dan pupuk daun. Untuk mengendalikan OPT petani menggunakan cara mekanik dengan cara langsung mengambil menggunakan tangan atau bisa juga disebut pengendalian secara mekanik. Selain itu petani menggunakan mulsa hitam perak (MHP) pada lahan kubis untuk menekan pertumbuhan rumput dan gulma lainnya.

Pengairan pada kedua lahan menggunakan sistem tadah hujan. Selain itu pengairan pada lahan kubis dengan insektisida juga memanfaatkan sumber mata air dari gunung Arjuno yang dihubungkan melalui pipa kecil. Varietas kubis yang

digunakan petani yaitu Grand 11 dan Grand 12. Hasil produksi kubis pada lahan yang diaplikasikan insektisida yaitu 6-7 ton per luasan lahan dengan diameter kubis mencapai 20 cm, sedangkan pada lahan tanpaaplikasi insektisida mencapai 2-3 ton per luasan lahan dengan diameter kubis mencapai 25-30 cm. Pemanenan dilakukan ketika kubis berumur 36-40 HST.

4.2 Penyakit pada Tanaman Kubis

Berdasarkan pengamatan di lapangan, penyakit yang menyerang tanaman kubis adalah busuk hitam yang diduga disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* Dow.

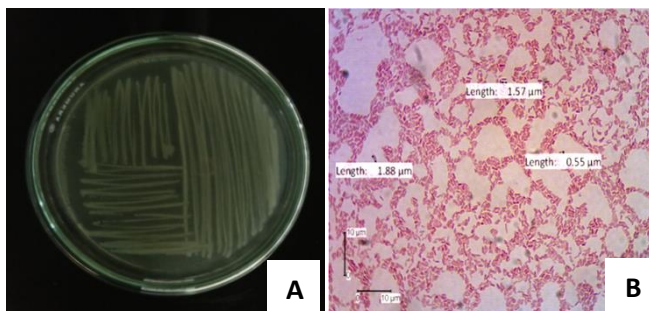


Gambar 8. Tanaman Kubis yang terserang *X. campestris*
A Kenampakan Kubis yang terserang busuk hitam
B. Bagian daun yang akan diisolasi

Hasil pengamatan gejala di lapang menunjukkan bagian daun yang terserang bakteri ini berwarna coklat kehitaman dan lama kelamaan berubah kuning lalu mengering serta pada tulang daun atau batang yang sakit tampak berkas pembuluh yang berwarna gelap. Hal ini sejalan dengan pendapat Sastrosiswojo *et al.*, (2005) Gejala khas pada daun yang terserang *X. campestris* adalah batang atau bunga yang terserang umumnya menjadi busuk dan berwarna hitam atau coklat kemudian mengering sehingga kurang layak untuk dipanen. Pada serangan yang berat, seluruh daun menguning dan mudah luruh (gugur) sebelum waktunya. Umumnya penyakit menyerang mulai dari daun-daun bawah dan dapat menyebabkan gugurnya daun satu per satu.

Serangan penyakit busuk hitam kubis pada lahan dengan aplikasi insektisida berbahan aktif klorantraniliprol mencapai 55% sedangkan lahan tanpa aplikasi insektisida mencapai 10 %. Intensitas penyakit yang menyerang tanaman kubis dihitung dengan melakukan perhitungan di lahan menggunakan metode

skoring. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan masing-masing 20 sampel tanaman pada setiap lahan.



Gambar 9. Bakteri *Xanthomonas* sp. A. Kenampakan makroskopis pada media NA umur 24 jam B. Kenampakan mikroskopis

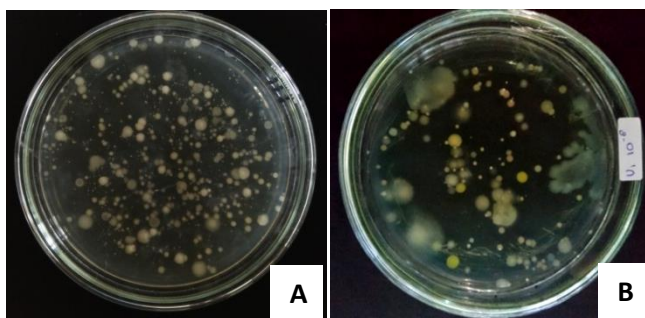
Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna krem kekuningan, permukaan halus mengkilap dan tepian rata ketika ditumbuhkan pada media NA umur 24 jam. Hasil pengamatan mikroskopis bakteri merupakan gram negatif berbentuk batang yang berukuran $1 \times 0,5 \mu\text{m}$. Hal ini sesuai dengan pendapat Holt *et al.*, (1987) bahwa sel bakteri genus *Xanthomonas* berbentuk batang berukuran $0,4\text{-}0,7 \times 0,7\text{-}1,8 \mu\text{m}$ dan sebagian besar genus *Xanthomonas* memiliki koloni berwarna kekuningan karena mengandung pigmen xanthomonadin. Berdasarkan pernyataan tersebut penyakit busuk hitam pada kubis di lahan adalah disebabkan bakteri *Xanthomonas* sp.

4.3 Isolasi dan Kelimpahan Bakteri Rizosfer pada Tanaman Kubis

4.3.1 Isolasi Bakteri Rizosfer

Sampel tanah yang telah diambil pada daerah perakaran tanaman kubis kemudian ditimbang dan dilakukan pengenceran pada tingkat pengenceran 10^7 , 10^8 dan 10^9 . Setelah itu suspensi sebanyak 1 ml diisolasi pada media NA dan ditunggu 24-48 jam pada suhu ruang yaitu $27\text{-}28^\circ\text{C}$. Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA kemudian dihitung kelimpahannya menggunakan metode perhitungan bakteri pada lempeng pembiakan (*Plate Count*) lalu dipurifikasi berdasarkan kenampakan koloni yang berbeda. Hasil hitungan yang dapat dianggap valid menurut Usman (1986) adalah 30 – 300 koloni pada setiap lempeng pembiakan dengan tingkat pengenceran tertentu.

Untuk identifikasi digunakan isolat bakteri pada ketiga ulangan pada pengenceran 10^8 saja hal ini dikarenakan pada pengenceran pangkat tersebut bakteri dapat tumbuh secara baik dan tidak berdekatan sehingga memudahkan untuk dilakukan purifikasi untuk mendapatkan kultur bakteri yang murni.



Gambar 10. Hasil isolasi pada pengenceran 10^8 pada media NA yang berumur 48 jam A. Koloni bakteri pada lahan tanpa aplikasi insektisida B. Koloni bakteri pada lahan yang diaplikasikan insektisida

Jumlah isolat bakteri pada ketiga ulangan yang ditemukan pada rizosfer tanaman kubis tanpa penggunaan insektisida adalah 20 isolat sedangkan pada lahan dengan penggunaan insektisida adalah 14 isolat. Hasil isolasi yang didapatkan akan dilakukan identifikasi dan 2 bakteri dominan yang terdapat pada setiap lahan akan diuji ketahanannya pada media NA dengan campuran insektisida pada beberapa konsentrasi yang berbeda.

4.3.2 Kelimpahan Bakteri

Hasil kelimpahan koloni bakteri yang didapatkan dari kedua lahan hasil pengenceran 10^8 dan didapatkan hasil yaitu pada lahan tanpa aplikasi insektisida yaitu 20 isolat bakteri sedangkan pada lahan dengan aplikasi insektisida yaitu 14 isolat bakteri. Hasil kelimpahan bakteri pada lahan tanpa aplikasi insektisida dan sintetik dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan kelimpahan bakteri pada lahan tanpa aplikasi insektisida dan insektisida

Kelimpahan	Lahan Tanpa Insektisida	Lahan Insektisida
(cfu/g)	$4,27 \times 10^{10}$	$2,67 \times 10^{10}$

Berdasarkan hasil dari kelimpahan bakteri yang diperoleh dapat diketahui bahwa kelimpahan bakteri pada lahan yang tidak diaplikasikan insektisida lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah bakteri yang diaplikasikan insektisida. Sesuai dengan pernyataan yang disampaikan oleh Sodiq (2000), bahwa penggunaan pestisida dapat mempengaruhi jumlah dan populasi bakteri tanah dan mikroorganisme tanah lainnya. Adanya residu pestisida dalam tanah dapat menurunkan populasi fauna tanah dimana pestisida seringkali mengandung senyawa aktif yang berupa senyawa kompleks sehingga bakteri sulit menguraikan senyawa tersebut menjadi senyawa yang lebih sederhana. Populasi

bakteri juga dipengaruhi oleh pH, praktik pertanian, pemupukan, pemakaian pestisida, dan penambahan bahan organik (Rao, 1994).

4.4 Karakterisasi Bakteri Hasil Eksplorasi

Hasil eksplorasi bakteri pada tanahtanpa diaplikasikan insektisidadan lahan yang diaplikasikan insektisida didapatkan 34 isolat bakteri. Bakteri pada tanah yang telah didapat dari hasil isolasi kemudian dilakukan pemurnian berdasarkan kenampakan koloni yang berbeda. Pemurnian dilakukan dengan cara menggoreskan koloni bakteri pada media NA. Bakteri memiliki karakter yang berbeda, sehingga perlu dilakukan karakterisasi. Karakterisasi dilakukan berdasarkan morfologi koloni yaitu meliputi warna, bentuk, elevasi dan tepian, fisiologi yaitu pengujian hipersensitif pada daun tembakau dan biokimia yang meliputi uji pengecatan Gram, uji KOH 3%, Uji Oksidatif Fermentatif, Uji pertumbuhan pada Media YDC, Uji katalase, Pengujian pigmen fluorescens pada media selektif King's B, Pengecatan endospora dan Pertumbuhan pada suhu 33°. Pengujian dilakukan dengan menggunakan isolat bakteri yang berumur 24-48 jam. Hal ini dikarenakan bakteri dapat berkembang dengan baik pada umur 24-48 jam. Isolat bakteri yang melebihi umur 24-48 jam dikhawatirkan terjadi kerusakan pada dinding sel bakteri sehingga apabila dilakukan pengujian tidak mendapatkan hasil yang maksimal.

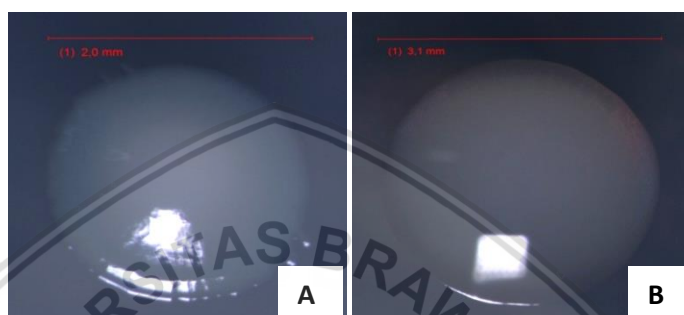
4.4.1 Karakterisasi Morfologi Koloni

Bakteri dibiakkan dengan metode gores tunggal dengan tujuan untuk menghasilkan koloni tunggal yang akan diamati morfologinya. Capuccino dan Sherman (1992) menyebutkan bahwa karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah lolos seleksi. Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media yang bervariasi akan menunjukkan penampakan makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya.

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri rhizosfer dari ke 34 isolat bakteri yang didapat menunjukkan ciri-ciri yang berbeda yang disajikan seperti pada tabel 5. Pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media NA selama 24 jam.

Sebagian besar koloni bakteri yang tumbuh memiliki ciri yang hampir sama, seperti warna, bentuk, permukaan dan tepian. Pada isolat I1 koloni bakteri berwarna kuning, isolat I2, I3, TI7, TI8, TI10, TI15, TI16, TI17 dan TI18 koloni bakteri berwarna putih, isolat S4 berwarna merah muda, isolat I5 dan TI9

berwarna oranye, isolat I6, I7, I8, I10, I11, TI3, TI4, TI11, TI12, TI14 dan TI19 koloni berwarna krem, isolat I9, I12, TI2, TI13 dan TI20 koloni bakteri berwarna kuning transparan, sedangkan untuk isolat I13, I14, TI1, TI5, TI6 koloni bakteri berwarna krem kekuningan. Pada ke 34 isolat bakteri memiliki tepian yang rata kecuali isolat I2 yaitu memiliki tepian bergelombang. Elevasi dari isolat bakteri juga sebagian besar sama yaitu cembung. Kecuali pada isolat I4, I9, TI1, TI9, TI10, TI12, TI15 dan TI19 memiliki elevasi rata.



Gambar 11. Koloni bakteri pada media NA umur 24 jam (A) Isolat TI 3
(B) Isolat I2

4.4.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia Bakteri

Bakteri memiliki aktivitas fisiologi dan biokimia yang berbedabeda untuk bertahan hidup di lingkungan tempat tinggalnya. Respon bakteri terhadap perlakuan fisik dan kimia diamati untuk proses identifikasi. Untuk karakterisasi fisiologi yaitu dengan melakukan uji hipersensitif pada daun tembakau. Karakterisasi biokimia dilakukan berdasarkan metode Schaad *et al.*, (2001) dan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Holt *et al.*, (1984) yang meliputi uji pengecatan Gram, uji katalase, uji pertumbuhan pada media YDC, uji oksidatif fermentative, uji pertumbuhan pada perlakuan suhu 33°, pengecatan endospora dan uji pertumbuhan pada media selektif King's B untuk mengetahui produksi pigmen fluorescens pada bakteri. Hasil uji fisiologi dan biokimia pada ke 34 isolat bakteri disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Karakterisasi Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Bakteri Rizosfer

a. Lahan Aplikasi Insektisida

Isolat	Karakterisasi morfologi					Karakterisasi fisiologi dan biokimia						Genus bakteri
	Bentuk	Elevasi	Warna	Tepi	Bentuk sel	Uji hipersensitif	Uji Gram	Uji OF	Uji media YDC	Uji media KB	Uji Perlakuan suhu 33°	
I1	Bulat	Cembung	Kuning	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp
I2	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
I3	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
I4	Bulat	Rata	Merah muda	Rata	Batang	+	Gram +	F	Kuning	TD	TD	Tidak teridentifikasi
I5	Bulat	Cembung	Oranye	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
I6	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
I7	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
I8	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
I9	Bulat	Rata	Kuning transparan	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
I10	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
I11	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
I12	Bulat	Cembung	Kuning transparan	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp
I13	Bulat	Cembung	Krem kekuningan	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	–	<i>Xylophilus</i> sp
I14	Bulat	Cembung	Krem kekuningan	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	–	<i>Xylophilus</i> sp

Keterangan: (+) menunjukkan reaksi positif, (-) menunjukkan reaksi negatif, (O) Oksidatif, (F) Fermentatif, (TD) tidak diuji

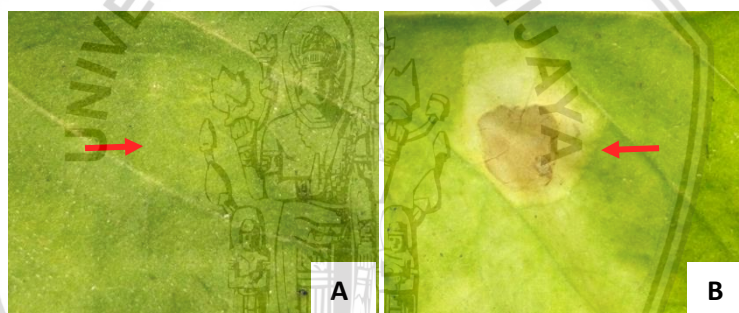
b. Lahan Tanpa Insektisida

Isolat	Karakterisasi morfologi					Karakterisasi fisiologi dan biokimia						Genus bakteri
	Bentuk	Elevasi	Warna	Tepi	Bentuk sel	Uji hipersensitif	Uji Gram	Uji OF	Uji media YDC	Uji media KB	Uji Perlakuan suhu 33°	
T11	Bulat	Rata	Krem kekuningan	Rata	Batang	–	Gram –	O	TD	+	TD	<i>Pseudomonas</i> sp
T12	Bulat	Cembung	Kuning transparan	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp
T13	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
T14	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
T15	Bulat	Cembung	Krem kekuningan	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
T16	Bulat	Cembung	Krem kekuningan	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
T17	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Bulat	–	Gram +	F	TD	TD	TD	<i>Stapylococcus</i> sp
T18	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Bulat	–	Gram +	F	TD	TD	TD	<i>Stapylococcus</i> sp
T19	Bulat	Rata	Oranye	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp
T110	Bulat	Rata	Putih	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
T111	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
T112	Bulat	Rata	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Putih	TD	TD	<i>Erwinia</i> sp
T113	Bulat	Cembung	Kuning transparan	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp
T114	Bulat	Cembung	Krem	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
T115	Bulat	Rata	Putih	Rata	Batang	–	Gram +	F	TD	TD	TD	<i>Corynebacterium</i> sp
T116	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Batang	–	Gram +	F	TD	TD	TD	<i>Bacillus</i> sp
T117	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Batang	+	Gram –	F	Kuning	TD	TD	<i>Pantoea</i> sp
T118	Bulat	Cembung	Putih	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp
T119	Bulat	Rata	Krem	Rata	Batang	–	Gram +	F	TD	TD	TD	<i>Bacillus</i> sp
T120	Bulat	Cembung	Kuning transparan	Rata	Batang	+	Gram –	O	Kuning	–	+	<i>Xanthomonas</i> sp

Keterangan: (+) menunjukkan reaksi positif, (-) menunjukkan reaksi negatif, (O) Oksidatif, (F) Fermentatif, (TD) tidak diuji.

1. Uji Hipersensitif

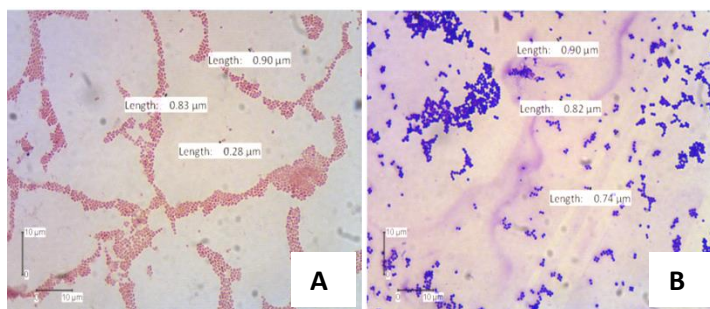
Berdasarkan hasil uji hipersensitif pada 34 isolat bakteri yang diuji menunjukkan adanya reaksi nekrosis pada tanaman tembakau. Hal ini terlihat dari timbulnya gejala nekrosis pada pengamatan 2 hsi. Pengujian hipersensitif pada daun tembakau yang diinfiltrasikan dengan suspensi isolat bakteri TI1, TI2, TI3, TI4, TI5, TI6, TI9, TI10, TI11, TI12, TI13, TI14, TI15, TI18, TI20 menunjukkan terjadinya nekrosis pada jaringan daun. Sedangkan isolat bakteri TI7, TI8, TI16 dan TI19 tidak menunjukkan adanya gejala nekrosis pada daun. Hal ini sesuai dengan pendapat Kerr dan Gibb (1997) apabila bakteri yang diuji berupa bakteri patogen maka akan terjadi nekrosis pada daun tembakau dimana terjadi hubungan yang kompatibel antara pathogen dan tembakau. Apabila suspensi bakteri yang diinfiltrasikan pada daun tembakau tidak terjadi reaksi hipersensitif maka dapat dijadikan inokulan untuk memacu pertumbuhan tanaman (Lelliot dan Stead, 1987).



Gambar 12. Hasil uji hipersensitif. (A) Kontrol. (B) Terjadi nekrosis pada isolat TI 1 pada umur 24 jam

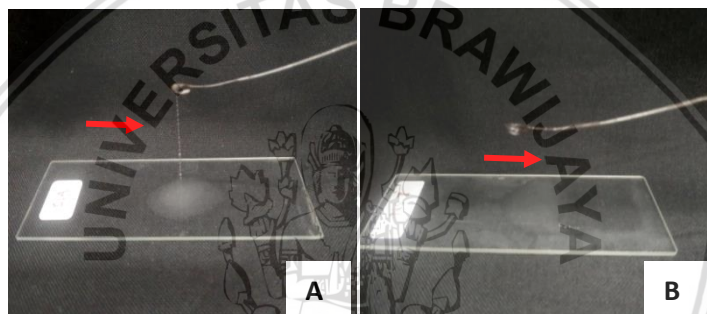
2. Uji Gram

Berdasarkan hasil pengujian Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram, semua isolat bakteri termasuk kedalam Gram negatif terkecuali isolat I4, TI7, TI8, TI15, TI16 dan TI19 yang merupakan bakteri Gram positif. Agrios (2005) mengatakan reaksi Gram membedakan jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif mempunyai komponen peptidoglikan yang kompleks pada dinding sel sehingga mampu mempertahankan warna ungu dari Kristal violet. Sedangkan bakteri gram negatif memiliki komponen peptidoglikan lebih tipis sehingga warna ungu dari Kristal violet tidak dapat dipertahankan dan akan luruh ketika dibilas dengan alkohol.



Gambar 13. Hasil pewarnaan gram. (A) Isolat TI 3 dan (B) Isolat TI 7

Untuk memperkuat penentuan jenis Gram pada bakteri dilakukan uji KOH 3%. Menurut pernyataan Suwanda didalam Huda (2012) bakteri Gram negatif ditandai dengan adanya pembentukan lendir ketika isolat bakteri dicampurkan dengan larutan KOH 3% sedangkan bakteri Gram positif tidak terbentuk lendir apabila suspensi diangkat menggunakan jarum ose.



Gambar 14. Uji KOH 3%. (A) Reaksi positif ditandai adanya lendir menunjukkan Gram negatif pada isolat TI 1 (B) Reaksi negatif ditandai tidak adanya lendir menunjukkan Gram positif pada isolat TI 7

3. Pengecatan spora

Pengecatan spora dilakukan pada bakteri Gram positif. Berdasarkan dari hasil uji pewarnaan Gram dan KOH 3% sebelumnya didapatkan hasil bahwa isolat TI7, TI8, TI15, TI16 dan TI19 merupakan bakteri Gram positif sehingga perlu dilakukan uji pengecatan spora. Setelah diamati dibawah mikroskop diketahui bahwa isolat TI16 dan TI19 menunjukkan reaksi positif dengan ditandai adanya spora berwarna kehijauan dan sel vegetatifnya berwarna kemerahan. Sedangkan pada isolat TI7, TI8 dan TI15 tidak ditemukan adanya spora. Spora merupakan bentuk pertahanan diri bakteri untuk bertahan pada kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Schaad *et al.*, 2001). Menurut Holt *et al.*, (1984) didalam *Bergey's Manual of Systematic Bacteriologi* letak endospora pada sel bakteri dibagi menjadi tiga yaitu endospora terminal, endospora central dan endospora subterminal. Berdasarkan dari letak spora,

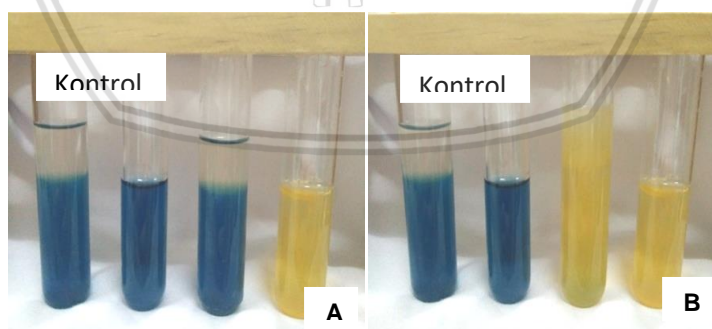
spora isolat TI 19 terletak ditengah sel vegetatif atau biasa disebut endospora central. Spora yang telah tua nantinya akan pecah dan keluar dari sel bakteri.



Gambar 15. Pewarnaan spora yang ditunjukkan adanya warna hijau pada sel bakteri pada isolat TI19

4. Uji Oksidatif Fermentatif

Uji oksidatif fermentatif bertujuan untuk membedakan bakteri yang bersifat oksidatif dan bakteri yang bersifat fermentatif serta untuk melihat kemampuan bakteri dalam memecah karbohidrat dalam situasi aerob dan anaerob. Dari hasil pengujian didapatkan hasil yaitu pada isolat I1, I12, I13, I14, TI1, TI2, TI9, TI13, TI18 dan TI20 bersifat oksidatif. Reaksi oksidatif ditunjukkan apabila pada media yang tidak ditutup water agar steril terjadi perubahan dari biru menjadi kuning sedangkan pada tabung yang ditutup water agar tidak terjadi perubahan warna. Pada isolat I2, I3, I4, I5, I6, I7, I8, I9, I10, I11, TI3, TI4, TI5, TI6, TI7, TI8, TI10, TI11, TI12, TI14, TI15, TI16, TI17, TI19 menunjukkan reaksi fermentatif, yaitu terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada kedua tabung media yang tidak ditutup dan yang ditutup water agar steril.



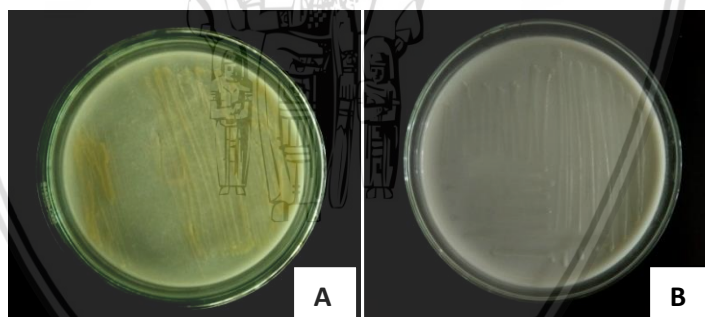
Gambar 16. Pengujian Oksidatif Fermentatif. (A) Reaksi Oksidatif pada isolat I1, (B) Reaksi Fermentatif pada isolat I2

5. Pertumbuhan pada Media YDC dan Perlakuan Suhu 33°C

Pengujian pada media YDC bertujuan untuk mengetahui genus bakteri *Erwinia* dan *Pantoea*. Ketika isolat bersifat fermentatif, maka dilakukan uji pertumbuhan pada media YDC. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri berwarna kuning pada media. Apabila bakteri yang tumbuh

berwarna kuning, maka bakteri merupakan genus *Pantoea*. Sedangkan bakteri yang tumbuh berwarna putih maka bakteri merupakan genus *Erwinia*. Untuk membedakan bakteri genus *Xanthomonas* dan *Xylophilus* dilakukan uji pertumbuhan media YDC yang diberi perlakuan suhu 33°C. Apabila bakteri mampu tumbuh pada suhu tersebut dan menghasilkan warna kuning maka bakteri tersebut merupakan genus *Xanthomonas*, tetapi sebaliknya apabila bakteri tidak dapat tumbuh pada suhu tersebut maka bakteri tersebut merupakan genus *Xylophilus*.

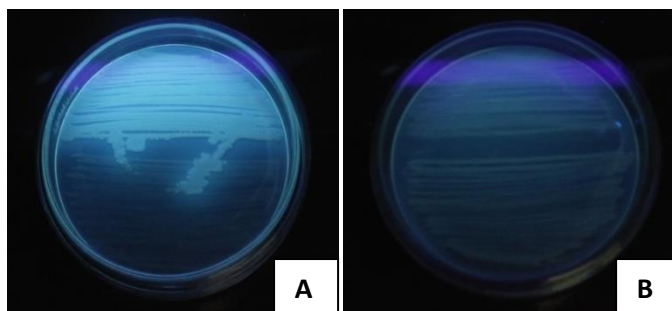
Dari hasil uji, isolat I6, I9, I10, I11, TI3, TI4, TI10, TI11, TI12 merupakan genus *Erwinia*. Isolat I2, I3, I7, TI5, TI6, TI14 dan TI17 merupakan genus *Pantoea*. Isolat I1, I12, TI2, TI9, TI13, TI18 dan TI20 merupakan genus *Xanthomonas*. Isolat I13 dan I14 merupakan genus *Xylophilus*. Schaad *et al.*, (2001) mengatakan bahwa bakteri yang bersifat fermentatif ketika ditumbuhkan pada media YDC berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Pantoea*. Jika bakteri tidak berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Erwinia*. Sedangkan untuk bakteri yang tidak memproduksi pigmen fluorescent jika ditumbuhkan pada media YDC dengan suhu 33°C berwarna kuning merupakan bakteri dari genus *Xanthomonas*.



Gambar 17. Uji Pertumbuhan pada media YDC. (A) Isolat I7 (B) Isolat TI3

6. Pigmen Fluorescent pada Media King's B

Dari ke 34 isolat yang ditumbuhkan pada media King's B, Hanya isolat TI1 yang memproduksi pigmen fluorescent dan diduga merupakan bakteri dari genus *Pseudomonas*. Karakter khas dari semua spesies *Pseudomonas* adalah produksi pigmen fluorescent yang dapat terlihat pada media rendah zat besi seperti King's B. Bakteri yang mampu menghasilkan pigmen fluorescent yang berpendar dan memperlihatkan warna hijau muda menyala ketika diamati dibawah sinar ultra violet (Schaad *et al.*, 2001).



Gambar 18. Pengujian Pigmen Fluorescent. (A) Reaksi positif ditunjukkan bakteri yang berpendar pada isolat TI 1 (B) Reaksi negatif ditunjukkan bakteri yang tidak berpendar pada isolat TI 9

7. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki enzim katalase atau tidak. Enzim katalase berperan sebagai katalisator dalam penguraian hydrogen peroksida (H_2O_2). Berdasarkan hasil uji pada ke 34 isolat bakteri didapatkan hasil yaitu seluruh bakteri mampu menghasilkan enzim katalase dengan ditandai adanya buih atau gelembung gas ketika dicampurkan dengan reagen H_2O_2 .



Gambar 19. Uji katalase (A) Kontrol (B) Reaksi positif pada isolat TI 2

4.5 Identifikasi Bakteri Rizosfer

Bakteri rizosfer hasil eksplorasi yang telah dilakukan karakterisasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia sampai tingkat genus berdasarkan Schaad *et al.*, (2001) dan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) kemudian dilakukan identifikasi. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui suatu taksa pada setiap makhluk hidup. Hasil identifikasi bakteri rizosfer pada lahan tanpa diaplikasikan insektisida dan lahan yang diaplikasikan insektisida didapatkan 34 isolat bakteri dengan genus dan jumlah yang bermacam. Hasil identifikasi bakteri rizosfer ditunjukkan pada tabel 6.

Tabel 6: Hasil identifikasi bakteri rizosfer pada lahan yang diaplikasikan insektisida dan tanpa insektisida sampai tingkat genus
a. Lahan Aplikasi Insektisida

Hasil identifikasi		CFU/ gram tanah
Kode isolat	Genus bakteri	
I1	<i>Xanthomonas</i> sp	4×10^8
I2	<i>Pantoea</i> sp	46×10^8
I3	<i>Pantoea</i> sp	13×10^8
I4	Tidak teridentifikasi	8×10^8
I5	<i>Pantoea</i> sp	1×10^8
I6	<i>Erwinia</i> sp	4×10^8
I7	<i>Pantoea</i> sp	1×10^8
I8	<i>Erwinia</i> sp	1×10^8
I9	<i>Erwinia</i> sp	3×10^8
I10	<i>Erwinia</i> sp	7×10^8
I11	<i>Erwinia</i> sp	110×10^8
I12	<i>Xanthomonas</i> sp	14×10^8
I13	<i>Xylophilus</i> sp	1×10^8
I14	<i>Xylophilus</i> sp	51×10^8
Jumlah		$2,67 \times 10^{10}$

Keterangan: I: Insektisida

b. Lahan Tanpa Insektisida

Hasil identifikasi		CFU/ gram tanah
Kode isolat	Genus bakteri	
TI1	<i>Pseudomonas</i> sp	10×10^8
TI2	<i>Xanthomonas</i> sp	25×10^8
TI3	<i>Erwinia</i> sp	23×10^8
TI4	<i>Erwinia</i> sp	20×10^8
TI5	<i>Pantoea</i> sp	54×10^8
TI6	<i>Pantoea</i> sp	11×10^8
TI7	<i>Staphylococcus</i> sp	1×10^8
TI8	<i>Staphylococcus</i> sp	2×10^8
TI9	<i>Xanthomonas</i> sp	15×10^8
TI10	<i>Erwinia</i> sp	4×10^8
TI11	<i>Erwinia</i> sp	9×10^8
TI12	<i>Erwinia</i> sp	43×10^8
TI13	<i>Xanthomonas</i> sp	105×10^8
TI14	<i>Pantoea</i> sp	28×10^8
TI15	<i>Corynebacterium</i> sp	41×10^8
TI16	<i>Bacillus</i> sp	12×10^8
TI17	<i>Pantoea</i> sp	16×10^8
TI18	<i>Xanthomonas</i> sp	3×10^8
TI19	<i>Bacillus</i> sp	4×10^8
TI20	<i>Xanthomonas</i> sp	1×10^8
Jumlah		$4,27 \times 10^{10}$

Keterangan: TI: Tanpa Insektisida

Hasil eksplorasi menunjukkan bahwa bakteri rizosfer pada lahan dengan aplikasi insektisida dan lahan tanpa aplikasi insektisida berbahan aktif klorantraniliprod diperoleh $6,94 \times 10^{10}$ koloni per gram tanah yang terdiri dari 34

isolat dengan 4 genus dari lahan dengan aplikasi insektisida dan 7 genus dari lahan tanpa aplikasi insektisida. Total koloni bakteri pada lahan tanpa aplikasi insektisida lebih banyak daripada lahan yang diaplikasikan insektisida. Lahan tanpa aplikasi insektisida diperoleh $4,27 \times 10^{10}$ koloni per gram tanah yang terdiri dari 20 isolat bakteri dengan 7 genus dari *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium* sp., dan *Bacillus* sp. Lahan dengan aplikasi insektisida diperoleh $2,67 \times 10^{10}$ koloni per gram tanah terdiri dari 14 isolat bakteri dengan 4 genus dari *Xanthomonas* sp., *Pantoea* sp., *Erwinia* sp., dan *Xylophilus* sp.

Pseudomonas sp memiliki potensi sebagai agens antagonis yang digunakan sebagai biokontrol agens terhadap penyakit yang bersifat tular tanah dan udara. Bakteri ini dapat menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat antibiosis seperti enzim kitinase yang dapat menghidrolisis dinding sel jamur, siderofor, dan antibiotik lainnya yang dapat menghambat perkembangan patogen (Habazar dan Yaherwandi, 2006). Selain sebagai agens antagonis, *Pseudomonas* sp termasuk dalam kategori PGPR yang mampu memicu pertumbuhan tanaman (biostimulan) dan ketahanan tanaman melalui kemampuan memproduksi ZPT (Zat pengatur Tumbuh), pelarut fosfat yang dapat meningkatkan efisiensi pemupukan fosfat, kemampuan produksi antibiotik, memproduksi siderofor, yang berperan dalam induksi resistensi atau peningkatan ketahanan tanaman terhadap organisme pengganggu tanaman (Haas dan Devago, 2005). Hasil penelitian Faesal *et al.*, (2017) *Pseudomonas* sp mampu mendekomposisi bahan organik lebih cepat jika dibandingkan dengan bioaktivator komersial (EM4).

Bacillus sp memiliki potensi mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mampu menekan serangan bulai akibat jamur *Peronosclerospora maydis* hingga 37% sesuai dengan hasil penelitian Jatnika *et al.*, (2013). *Bacillus* sp memiliki kemampuan melarutkan fosfat hingga 3 kali lebih banyak (Vessey, 2003). Menurut pernyataan Zahidah dan Shovitri (2013) Bakteri *Bacillus* sp. memiliki aktivitas enzim amilase, selulase, dan protease yang berperan penting mempercepat dekomposisi bahan organik.

Corynebacterium sp memiliki potensi mampu mendegradasi logam berat seperti Hg, Pb, Cu, Cd yang mencemari air dan tanah (Zulaika *et al.*, 2012). Selain itu bakteri ini memiliki potensi sebagai agens antagonis. Hasil penelitian Nuryani *et al.*, (2018) membuktikan bahwa biofungisida dengan bahan aktif dari bakteri

Corynebacterium sp mampu mengendalikan penyakit karat putih (*Puccinia horiana*) pada krisan sebesar 52 %. Menurut Hanudin *et al.*, (2010) *Corynebacterium* sp mampu memproduksi hormone IAA yang mampu memacu pertumbuhan tanaman.

Xanthomonas sp memiliki potensi sebagai patogen pada beberapa tanaman seperti penyakit busuk hitam pada kubis akibat *X.campestris*, penyakit kresek pada padi akibat *X.oryzae* dan penyakit pada jeruk *X.axonopodis citri* (Agrios,2005). Namun selain sebagai patogen penyakit pada tumbuhan, *Xanthomonas* sp mampu dijadikan sebagai agens antagonis untuk mengendalikan patogen jenis jamur karena mampu menghasilkan kitinase dan β -1,3-glucanase yang dapat melisis sel jamur (Gohel *et al.*,2003). Lebih lanjut Tchelet *et al.*, (1993) menunjukkan bahwa *Xanthomonas* sp memiliki enzim ekstraselular yang mampu mendegradasi senyawa kimia parathion menjadi sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mereka.

Erwinia sp memiliki potensi sebagai patogen pada beberapa spesiesnya. Seperti busuk lunak pada kentang, kubis dan wortel (Agrios,2005). Selain sebagai patogen erwinia memiliki potensi sebagai agens antagonis untuk mengendalikan patogen penyebab penyakit pada tanaman (Nasahi,2010). *Erwinia* sp dilaporkan memiliki kemampuan untuk mengurangi kadar aniline karena mampu tumbuh pada biakan yang mengandung aniline yang menggunakannya sebagai donor elektron dan sumber karbon. Aniline merupakan zat kimia yang mencemari air dan lingkungan yang tidak mudah terurai layaknya fenol dan benzoate Li *et al.*, (2010).

Pantoea sp memiliki potensi sebagai patogen pada tanaman jagung yang disebabkan bakteri *Pantoea stewartii* (Desi dan Prima,2017). *P. stewartii* adalah patogen penyebab penyakit tergolong berbahaya yang dilaporkan di luar negeri, pada varietas jagung rentan dapat menyebabkan kehilangan hasil antara 40-100 % (Pataky, 2003). Selain sebagai patogen, spesies *Pantoea agglomerans* merupakan salah satu bakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang dilaporkan dapat meningkatkan serapan nitrogen, fosfat, kalium dan meningkatkan total kandungan klorofil daun dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada tanaman padi lokal Bali (Khalimi *et al.*, 2012). Bakteri *Pantoea* sp mempunyai sifat antibiosis yang menghasilkan senyawa Herbicolin yang dapat menekan infeksi patogen pada tanaman dan menghasilkan enzim kitinase. Kitin tidak hanya berperan

penting pada mekanisme pertahanan tanaman, tetapi juga pada proses mycoparasit jamur (Kamal,2011).

Staphylococcus sp memiliki potensi sebagai bioremediator dalam mereduksi logam berat. Reduksi logam dapat berlangsung melalui proses disimilasi pada respirasi anaerobik. Chromium dan uranium dapat digunakan oleh mikroba sebagai akseptor elektron terminal pada respirasi anaerob. *Staphylococcus* sp diketahui memiliki reduksi As(V) yang tidak terkait dengan respirasi, melainkan dengan ketahanan (Diorio,1995).

4.6 Hasil Pengujian Bakteri Rizosfer Pada Insektisida

Bakteri rizosfer yang telah teridentifikasi kemudian dilakukan uji ketahanannya terhadap insektisida berbahan aktif klorantraniliprol. Hanya 4 bakteri dominan yang ditemukan pada masing-masing lahan yang dilakukan pengujian. Pengujian dilakukan dengan menggoreskan satu lup isolat bakteri yang kemudian digoreskan pada media NA berumur 24 jam yang telah ditambahkan insektisida dengan berbagai konsentrasi. Data hasil uji ketahanan bakteri rizosfer terhadap insektisida berbahan aktif klorantraniliprol disajikan dalam tabel 7.

Tabel 7. Hasil pengujian ketahanan bakteri rizosfer terhadap insektisida berbahan aktif klorantraniliprol pada inkubasi 24 jam.

No	Perkuan Media NA+Insektisida	Isolat I 6 (<i>Erwinia</i> sp)	Isolat I 7 (<i>Pantoea</i> sp)	Isolat TI 2 (<i>Xanthomonas</i> sp)	Isolat TI 10 (<i>Erwinia</i> sp)
1	Kontrol	+	+	+	+
2	P1 (Klorantraniliprol 0,5 ml/L)	+	+	+	+
3	P2 (Klorantraniliprol 1 ml/L)	+	+	+	+
4	P3 (Klorantraniliprol 1,5 ml/L)	+	+	+	+
5	P4 (Klorantraniliprol 2 ml/L)	+	+	+	+
6	P5 (Klorantraniliprol 2,5 ml/L)	+	+	+	+

Keterangan: (+) merupakan reaksi positif yang ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri pada media Na+Insektisida

Berdasarkan hasil dari pengujian ketahanan bakteri rizosfer pada insektisida berbahan aktif klorantraniliprol didapatkan hasil yaitu pada ke empat isolat bakteri yaitu I6 (*Erwinia* sp), I7 (*Pantoea* sp), TI 2 (*Xanthomonas* sp), dan

TI 10 (*Erwinia* sp) mampu tumbuh pada media NA yang telah diberikan insektisida dengan berbagai konsentrasi pada masing-masing perlakuan setelah diinkubasikan selama 24 jam. Kemampuan bakteri tumbuh pada medium seleksi menunjukkan bahwa bakteri tersebut toleran atau resisten terhadap insektisida klorantraniliprol. Degradasi merupakan salah satu aktifitas bakteri untuk bertahan hidup atau toleran terhadap insektisida. Wahyuni *et al.*, (2013), menyatakan bahwa bakteri yang mampu tumbuh pada medium yang dikomposisikan dengan pestisida adalah bakteri yang mampu menggunakan senyawa aktif pada insektisida sebagai sumber karbon. *Erwinia* sp, *Pantoea* sp dan *Xanthomonas* sp merupakan bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri atas tiga lapisan polimer yang terletak di luar lapisan peptidoglikan yaitu lipoprotein, membrane luar lipopolisakarida, dan fosfolipid. Sesuai dengan hasil penelitian Naphade (2012), bakteri gram negatif mampu bertahan dalam kondisi stress akibat tingginya konsentrasi pestisida. Adanya DNA plasmid pada bakteri gram negatif mengakibatkan bakteri mampu mentoleransi efek racun akibat penggunaan bahan kimia pestisida.

4.7 Pembahasan Umum

Hasil wawancara petani yang berada di kawasan UB *Forest* menunjukkan bahwa terdapat praktik penerapan budi daya tanaman kubis yang menggunakan aplikasi pestisida dan tanpa menggunakan pestisida. Pestisida yang digunakan yaitu jenis insektisida. Petani menggunakan insektisida dengan alasan tingginya serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) pada tanaman kubis mereka. Lahan yang diaplikasikan insektisida menambahkan bahan masukan seperti pupuk kandang dan pupuk NPK. Selain itu petani juga melakukan pengapuran pada lahan mereka dengan tujuan untuk menetralkan pH tanah. Sedangkan pada lahan tanpa aplikasi insektisida petani hanya menambahkan bahan masukan seperti pupuk kandang dan pupuk daun. Selain itu petani menggunakan mulsa hitam perak (MHP) untuk menekan pertumbuhan gulma dan menjaga kelembaban tanah.

Hasil isolasi dan identifikasi pada daun tanaman kubis yang terserang penyakit busuk hitam adalah disebabkan bakteri *Xanthomonas* sp. Intensitas serangan penyakit busuk hitam pada lahan yang diaplikasikan insektisida lebih tinggi dibandingkan lahan tanpa insektisida. Hal ini dikarenakan pada lahan yang diaplikasikan insektisida dilakukan pengairan setiap hari dan jarak tanam yang

terlalu rapat yaitu 10 cm. Menurut Sastrosiswojo *et al.*, (2005) jarak tanam optimal pada tanaman kubis yaitu 30-40 cm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sudir (2002) pertanaman yang terlalu rapat akan menciptakan kondisi lingkungan terutama suhu, kelembapan, dan aerasi yang lebih menguntungkan bagi perkembangan penyakit. Pada pertanaman yang rapat akan mempermudah terjadinya infeksi dan penularan dari satu tanaman ke tanaman yang lain. Hal ini didukung oleh pendapat Nopsa *et al.*, (2014) bahwa temperatur, kelembapan, angin, presipitasi, dan CO_2 juga mempengaruhi tingkat keparahan penyakit. Selain itu pemberian pestisida secara intensif dapat mempengaruhi keberadaan mikroba dan keadaan bahan organik yang merupakan nutrisi dari mikroba tanah, sehingga mikroba tanah yang bersifat antagonis tidak memiliki ruang dan energi untuk menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen yang menyerang tanaman kubis (Burhanuddin dan Nurmansyah, 2012). Rendahnya intensitas serangan penyakit pada lahan tanpa aplikasi insektisida dapat dikarenakan adanya peningkatan keanekaragaman bakteri rizosfer bermanfaat. Selain itu penggunaan bahan organik salah satunya pupuk kandang yang umumnya diterapkan di lahan organik berpotensi mengurangi patogen tanaman dibandingkan penggunaan pupuk kimia sintetis.

Kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan yang diaplikasikan insektisida dan tanpa aplikasi insektisida yang telah diisolasi dan diidentifikasi menunjukkan hasil yang berbeda. Pada lahan dengan aplikasi insektisida didapatkan 14 isolat bakteri rizosfer yang terdiri dari 4 genus yaitu *Xanthomonas* sp., *Pantoea* sp., *Erwinia* sp., dan *Xylophilus* sp. Sedangkan pada lahan tanpa aplikasi insektisida didapatkan 20 isolat bakteri rizosfer yang terdiri dari 7 genus yaitu *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp., *Pantoea* sp., *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium* sp., dan *Bacillus* sp. Genus *Erwinia* sp dan *Pantoea* sp adalah genus dominan yang terdapat pada lahan dengan aplikasi insektisida sedangkan genus *Erwinia* sp dan *Xanthomonas* sp adalah genus dominan yang terdapat pada lahan tanpa aplikasi insektisida. Total bakteri rizosfer pada lahan tanpa aplikasi insektisida yaitu $4,27 \times 10^{10}$ cfu/g sedangkan kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan dengan aplikasi insektisida yaitu $2,67 \times 10^{10}$ cfu/g. Rendahnya kelimpahan bakteri rizosfer pada lahan yang diaplikasikan insektisida sintetis tersebut menunjukkan bahwa insektisida sintetis dapat mempengaruhi kelimpahan populasi bakteri rizosfer. Hal itu menunjukkan bahwa insektisida sintetis berpengaruh terhadap keanekaragaman spesies. Penggunaan bahan

kimia dalam pengolahan lahan pertanian dapat menyebabkan terpaparnya residu kimia tersebut di lingkungan, maka kemungkinan ada spesies bakteri tertentu tertentu yang mati. Sanjaya (2012) menambahkan pemberian pestisida sintetis akan meninggalkan residu di lingkungan sekitar pertanaman kubis khususnya pada tanah. Dengan adanya residu pestisida sintetis, terdapat kemungkinan bahwa bakteri yang memiliki daya adaptasi rendah akan tersisihkan sehingga menyebabkan terjadinya perubahan jumlah masing-masing spesies dan berakibat terhadap kesempatan bagi tiap individu untuk dapat memanfaatkan relung yang ada karena adanya kemungkinan terjadinya kompetisi untuk memperebutkan relung yang ada. Lebih lanjut Romaniuk *et al.*, (2011) berpendapat bahwa sistem organik dan konvensional menghasilkan komunitas mikroba yang sangat beragam dengan fungsi ekologi yang berbeda. Rasio bakteri dan fungi lebih tinggi pada sistem organik dibandingkan dengan sistem konvensional.

Aplikasi insektisida dengan bahan aktif klorantraniliprol mempengaruhi keberadaan bakteri yang bersifat non patogenik pada tanaman. Hasil eksplorasi menunjukkan bahwa pada lahan yang diaplikasikan insektisida menghilangkan beberapa bakteri hasil eksplorasi pada lahan tanpa aplikasi insektisida seperti *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp, *Corynebacterium* sp dan *Staphylococcus* sp yang mana masing-masing dari bakteri tersebut memiliki potensi yaitu sebagai agens antagonis untuk mengendalikan patogen pada tanaman, sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, dekomposer, serta memiliki potensi yang dapat digunakan sebagai bioremediator. Menurut Rangasamy *et al.*, (2017) Insektisida memiliki pengaruh terhadap perkembangan bakteri dimana insektisida tersusun atas senyawa kimia kompleks, melalui seleksi alam bahan kimia tersebut lalu masuk kedalam dinding sel bakteri dan merusak plasmid yang didalamnya terdapat susunan rantai DNA yang menyebabkan bakteri tidak mampu melakukan pembelahan biner dan tidak mampu mendegradasi senyawa kimia yang ada pada insektisida tersebut menjadi sumber karbon untuk metabolisme mereka sehingga bakteri berada fase kematian (*Death phase*).

Empat bakteri dominan yang digunakan dalam uji peracunan makanan (*food poisoned test*) terdiri dari bakteri I6 (*Erwinia* sp), I7 (*Pantoea* sp), TI2 (*Erwinia* sp) dan TI 10 (*Xanthomonas* sp) ditumbuhkan pada media NA yang mengandung insektisida berbahan aktif klorantraniliprol. Hasil pengujian menunjukkan keempat bakteri mampu tumbuh pada masa inkubasi 24 jam pada

ke 5 perlakuan dengan konsentrasi tertinggi yaitu 2,5 ml/L. Hasil penelitian Wu *et al.*, (2018) bahwa aplikasi klorantraniliprol yang tinggi dan signifikan dapat mempengaruhi fitur mikroba tanah. Kemampuan bakteri tumbuh pada medium seleksi menunjukkan bahwa bakteri tersebut toleran atau resisten terhadap insektisida klorantraniliprol. Menurut Singh dan Walker (2006) bakteri yang dapat bertahan pada perlakuan pestisida terjadi karena bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri yang tidak terganggu oleh penambahan pestisida. Selain itu bakteri memanfaatkan residu pestisida yang menjadi bagian dari sistem metabolismenya dengan memanfaatkan senyawa aktif pada insektisida sebagai sumber karbon (Wahyuni *et al.*, 2013).

Secara alami mikroba tertentu mampu menyesuaikan hidup atau sintas pada tanah yang mengandung pestisida. Kemampuan keempat bakteri yang dapat bertahan pada insektisida yang diujikan memberikan harapan besar bakteri tersebut dapat dikembangkan sebagai agen bioremediasi khususnya dalam mendegradasi insektisida, walaupun dalam penelitian ini belum dibuktikan kemampuannya dalam menurunkan residu insektisida. Menurut Reis *et al.*, (2015) proses degradasi dipengaruhi oleh sifat fisika dan kimia dari pestisida, populasi mikroba, fauna, kandungan bahan organik tanah, suhu, pH tanah, kelembaban, sinar matahari, dan oksigen yang tersedia. Sejumlah mikroba asli (indigenous) tanah dapat merespon cemaran pestisida sebagai sumber karbon dalam alur proses metabolismenya. Keberadaan bahan organik tanah akan dimanfaatkan secara penuh oleh mikroba ketika melakukan proses dekomposisi bahan toksik tersebut.

Hasil penelitian Tchelet *et al.*, (1993) menunjukkan bahwa *Xanthomonas* sp memiliki enzim ekstraselular yang mampu mendegradasi senyawa kimia parathion menjadi sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mereka. Parathion merupakan bahan aktif yang terkandung dalam insektisida dengan rumus kimia 0,0 diethyl-0-p-nitrophenyl phosphorothioate. Selain *Xanthomonas* sp bakteri rizosfer yang mampu tumbuh pada insektisida yaitu *Pantoea* sp. Penelitian Zhang *et al.*, (2018) menunjukkan analisis spektrum FT-IR dan XPS bahwa akumulasi ion U (VI) terikat pada gugus fungsi yang mengandung nitrogen dan oksigen (yaitu, karboksil, amida dan fosforil). Sehingga menunjukkan bahwa *Pantoea* sp dapat berpotensi sebagai bioremediasi radionuklida yang mencemari tanah dan air. *Erwinia* sp dilaporkan memiliki kemampuan untuk mengurangi kadar aniline karena mampu tumbuh pada biakan yang mengandung aniline yang

menggunakanya sebagai donor elektron dan sumber karbon. Aniline merupakan zat kimia yang mencemari air dan lingkungan yang tidak mudah terurai layaknya fenol dan benzoate Li *et al.*, (2010)



V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kelimpahan bakteri rizosfer pada pertanaman kubis tanpa aplikasi insektisida lebih tinggi dibandingkan jumlah bakteri rizosfer dengan aplikasi insektisida
2. Jumlah genus bakteri pada lahan yang diaplikasikan insektisida lebih sedikit dibandingkan dengan lahan tanpa aplikasi insektisida.
3. Aplikasi insektisida berbahan aktif klorantraniliprol menghilangkan beberapa genus bakteri diantaranya *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp, *Corynebacterium* sp dan *Staphylococcus* sp.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi dari masing masing bakteri serta ketahananya pada bermacam-macam bahan aktif insektisida lainnya. Selain itu perlu dilakukan pengujian degradasi residu insektisida oleh ke empat bakteri yang tahan terhadap insektisida.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Academic Press. California.
- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. Academic Press. New York.
- Bahig A.E, Aly E.A, Khaled A.A, dan Amel K.A. 2008. Isolation, Characterization and Application of Bacterial Population From Agricultural Soil at Sohag Province, Egypt. Malaysian Journal of Microbiology. 4(2): 42-50.
- Bernadip., Hadiwiyono dan Sudadi. 2014. Keanekaragaman Jamur dan Bakteri Rizosfer Bawang Merah Terhadap Patogen Moler. Jurnal Ilmu Tanah dan Agroklimatologi 11 (1) : 7-13.
- Bintari, N.W.D., Retno, K dan Meitini W.P. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak Pada Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) Varietas Lokal di Bali. Jurnal Metamorfosa 2 (1) : 9 -15.
- Campbell. 2003. Biological control of Melbourne – Sydney. University press Cambridge.
- Cappucino, J.G. dan Sherman, N. 2005. Microbiology: A Laboratory Manual. 7th ed. Pearson Education Inc., USA.
- Collins., Wanda W., Qualset., dan Calvin O. 1999. Biodiversity in Agrosystems. CRC Press. USA .
- Desi, Yulfidan Prima., N. 2017. Upaya Pengendalian Penyakit Layu Stewart (*Pantoea stewartii subsp. stewartii*) Pada Tanaman Jagung Menggunakan Rizobakteria. Jurnal Bibiet 2(1) : 8-19.
- Djojosumarto, P. 2000. Pestisida dan Aplikasinya. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Faesal, Nurasiah D., dan Soenartiningih. 2017. Seleksi Efektivitas Bakteri Dekomposer terhadap Limbah Tanaman Jagung. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 1 (2).
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian. IPB Press. Bogor.
- Gohel V, Singh A, Vimal M, Ashwini D, dan Chatpar H.S. 2003. Bioprospecting and Anti Fungal Potential of Chitinolytic Microorganism. African Jurnal Biotechnol 5 (1) : 54-72.
- Goto, M. 1992. Fundamental of Bacterial Plant Pathology. Academic Press. California.
- Haas, D dan Devago, G. 2005. Biological Control of Soil Borne Pathogens by *Pseudomonas fluorescens* . Review Microbiology : 307-319.
- Habazar, T., dan Yaherwandi. 2006. Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan. Universitas Andalas. Padang.

- Hardjowigeno. 2007. Dasar-Dasar Ilmu Tanah. Penerbit Pustaka Utama. Jakarta.
- Hilda, R dan Fraga R. 1999. Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion. Department of Microbiology. Cuban Research Institute on Sugarcane By-Product (ICIDCA). Cuba.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., dan Williams, S.T. 1994. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 9nded. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Junmin Li., Zexin Jin., Binbin dan Yu. 2010. Isolation and Characterization of Aniline Degradation Slightly Halophilic Bacterium, *Erwinia* sp. Strain HSA6. Microbiological Research 165: 418-426.
- Karlen D. L., Hurley dan Mallarino., A.P. 2006. Crop Rotation On Soil Quality At Three Northern Corn/Soybean Belt Location. Jurnal Agronomi 98 (2) : 484-495.
- Kerr A, K dan Gibb. 1997. Bacteria and Phytoplasma as Plant Parasites. In Plant Pathogen and Plant Disease, J.F. Brown and H.J. Ogle (eds). Armidale: Australian Plant Pathology Society.
- Lelliot, R. A. dan Stead., D.E 1987. Methods for The Diagnosis of Bacterial Disease of Plants. Blackwell Scientific Publication. London.
- Li, Junmin., Zexin Jin dan Binbin Yu. 2009. Isolation and Characterization of Aniline Degradations Lightly Halophilic Bacterium, *Erwinia* sp. Strain HAS 6. Microbiological Research 165 : 418-426.
- Lugtenberg, B.J.J dan Lev Kravchenko. 1999. Tomato Seed and Root Exudates Sugars: Composition, Utilization by *Pseudomonas* Biocontrol Strains and Role in Rhizosphere Colonization. Environmental Microbiology 1(5) : 439-446.
- Masao, G. 1999. Fundamental of Bacterial Plant Pathology. Academic Press. California
- Naphade, S.R., Durve A., Bhot M, Varghese J dan Chandra N. 2012. Isolation, Characterization and Identification of Pesticide Tolerating Bacteria From Garden Soil. European J. of Experimental Biology 2(5):1943-1951.
- Nasahi, Cepy. 2010. Peran Mikroba Dalam Pertanian Organik. Universitas Padjajaran Bandung.
- Nuryani, W. Evi S. Hanudin dan Kurniawan, B. 2018. Aplikasi Biofungisida Berbahan Aktif *Corynebacterium* Sp. Ramah Lingkungan dalam Pengendalian Penyakit Karat Putih pada Krisan. Jurnal Teknologi Lingkungan 19 (1).
- Nopsa., Hernandez JF., Sharma dan Garrett. 2014. Climate Change and Plant Disease. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems, Volume 2. Elsevier Inc.

- Pelczar, M.J. dan Chan. E. C. S. 2006. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2, UI Press. Jakarta.
- Pratita, M.Y.E dan Putra, S.R. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. Jurusan kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember 1 (1) : 1-3.
- Raini, mariana. 2007. Toksikologi pestisida dan penanganan akibat keracunan pestisida. Media Litbang Kesehatan Volume XVII Nomor 3 Tahun 2007.
- Rao, Subba, N.S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan. UI Press Jakarta.
- Romaniuka, Romina, Lidia, G. Alejandro, C. dan Paolo. 2011. Assessment of Soil Microbial Diversity Measurements As Indicators Of Soil Functioning In Organic and Conventional Horticulture Systems. Ecological Indicators 11 : 1345–1353.
- Rukmana, R. 1994. Bertanam Kubis. Yogyakarta. Kanisius.
- Saraswati, R dan Sumarno. 2008. Pemanfaatan mikroba penyubur tanah sebagai komponen teknologi pertanian. Iptek tanaman pangan. 3 (1): 1-9.
- Schaad, N.W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria 3rd Ed. St. Paul. Minnesota: APS Press.
- Semangun. 2004. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. UGM Press. Yogyakarta.
- Singh, B., dan Walker. 2006. Microbial Degradation of Organophosphorus compounds. FEMS Micro. Rev. 30. 428-471.
- Sudir, B., Nuryanto, dan Triny, S.K. 2002. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. Iptek Tanaman Pangan 7 (2).
- Susilawati., Mustoyo., Eriandra., Budhisurya, R.C.W., Anggono., dan Bistok H.S. 2013. Analisis Kesuburan Tanah Dengan Indikator Mikroorganisme Tanah Pada Berbagai Sistem Penggunaan Lahan Di Plateu Dieng. Jurnal Agricultural. 25 (1) : 64-72.
- Sodiq, M. 2000. Pengaruh Pestisida Terhadap Kehidupan Organisme Tanah. Jurnal Mapeta 2 (5) : 20-22.
- Sorensen J, dan Sessitsch A. 2007. Plant-Associated Bacteria: Lifestyle and Molecular Interactions 2nd Ed. USA: CRC Press.
- Tchelet., R., Levanon A., Minghelgrin dan Henis Y. 1993. Parathion Degradation By A *Pseudomonas* sp and A *Xanthomonas* sp And By Their Ceude Enzyme Extracts As Affected By Some Cations. Soil B iol. B iochem 25 (12) : 1665-16711.

- Utomo, B. 2008. Eksplorasi Fungsi pada Tanah Gambut yang Berada Pada Lapis dan Febrik, Hemik dan Saprik. Media Unika, 73(4):9-13.
- Vessey, J.K. 2003. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers. Plant and Soil 2 (5) : 571-586.
- Wahyuni., S., Ardiwinata A.N, dan Sudiana S.M. 2013. Isolasi Bakteri Pendegradasi Senyawa Persisten Organik Polutan Asal Tanah Inceptisol Karawang. Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS. Surakarta.
- Widawati & Sulasih. 2006. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) di Cikaniki, Gunung Botol dan Ciptarasa, serta Kemampuannya Melarutkan P Terikat di Media Pikovskaya Padat. Biodiversitas. Vol. 7 No. 2. Hal 109-113.
- Widawati, S. dan Sulasih. 2006. Augmentasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Potensial sebagai Pemacu Pertumbuhan Caisin (*Brassica caventis* Oed.) di Tanah Marginal. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor.
- Wiwik Jatnika, Abdul L.A dan Luqman Q. A. 2013. Pengaruh Aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Perkembangan Penyakit Bulai Yang Disebabkan Oleh Jamur Patogen *Peronosclerospora maydis* Pada Tanaman Jagung. Jurnal HPT 1 (4) : 2338 – 4336.
- Wu, Meng., Guilong Li a, Xiaofen C, Jia L, Ming L, Chunyu J, dan Zhongpei. 2018. Rational Dose of Insecticide Chlorantraniliprole Displays A Transient Impact On The Microbial metabolic Functions And Bacterial Community In A Silty-loam Paddy Soil. Science Of The Total Environment : 236–244.
- Zahidah, D. dan Shovitri. 2013. Isolasi Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Prganik. Jurnal Sains dan Seni Pomits 2(1) : 2337-3520.
- Zhang, Zhein., Haibo Liu., Wencheng Song., Wenjie Ma., Wei Hu., Tianhu Chen., Lei Liu.,. 2018. Accumulation of U(VI) on the *Pantoea* sp. TW18 isolated from radionuclidecontaminated soils. Journal of Environmental Radioactivity :219–226

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Anova

Tabel 8. Tabel perhitungan uji T pada kelimpahan bakteri rizosfer

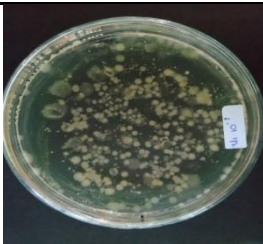

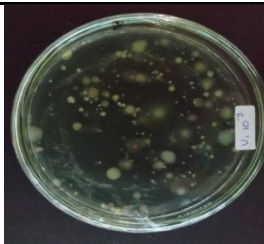
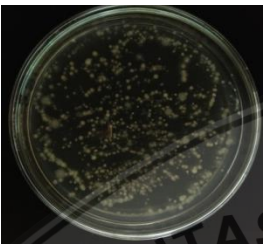
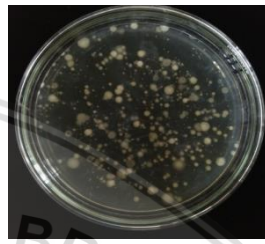
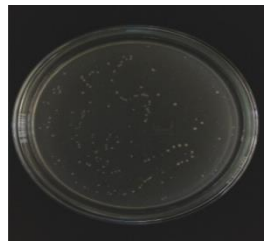
No	Lahan Aplikasi Insektisida (I)	Lahan Tanpa Insektisida (TI)
1	4	10
2	46	25
3	13	23
4	8	20
5	1	54
6	4	11
7	1	1
8	1	2
9	3	15
10	7	4
11	110	9
12	14	43
13	1	105
14	51	28
15		41
16		12
17		16
18		3
19		4
20		1
VARIANS	950.9010989	614.0289474
F HITUNG	12.03978328	
F TABEL	2.280034058	
Keterangan	Unequal variance	

t-Test: Two-Sample Assuming Unequal Varian





	Variable 1	Variable 2
Mean	18.85714286	21.35
Variance	950.9010989	614.0289474
Observations	14	20
Hypothesized Mean Difference	0	
Df	24	
	-	
	0.251020	
t Stat	036	
P(T<=t) one-tail	0.401967661	
t Critical one-tail	1.710882067	
P(T<=t) two-tail	0.803935322	
t Critical two-tail	2.063898547	

Lampiran 2. Karakterisasi bakteri rizosfer


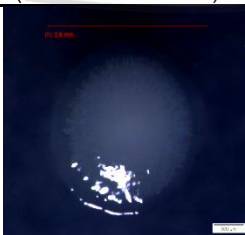
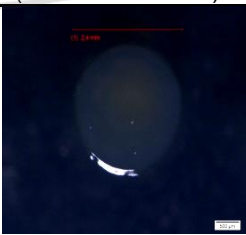
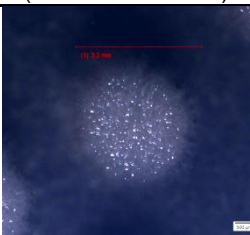
Tabel 9. Hasil isolasi bakteri rizosfer

No	Lahan	10^7	10^8	10^9
1	Aplikasi Insektisida			
2	Tanpa Insektisida			

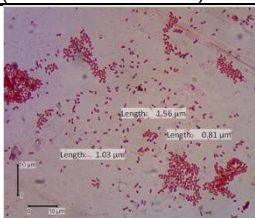
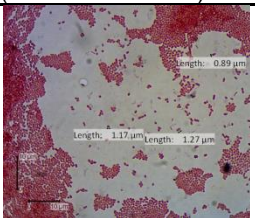
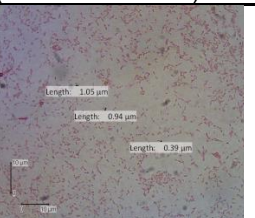
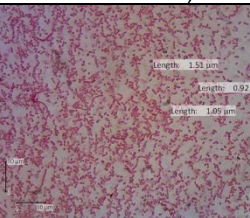
Tabel 10. Uji hipersensitif pada daun tembakau

No	Isolat I 6 (Dokumentasi+Ket)	Isolat I 7 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 2 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 10 (Dokumentasi+Ket)
1				
	Terjadi Nekrosis	Terjadi Nekrosis	Terjadi Nekrosis	Terjadi Nekrosis

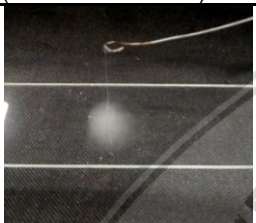


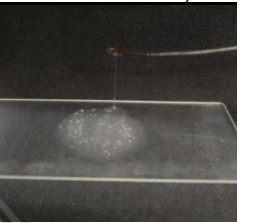
Tabel 11. Karakteristik morfologi koloni bakteri

No	Isolat I 6 (Dokumentasi+Ket)	Isolat I 7 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 2 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 10 (Dokumentasi+Ket)
1				


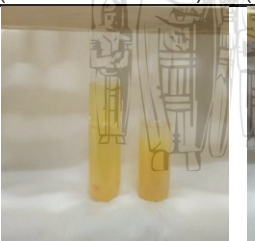
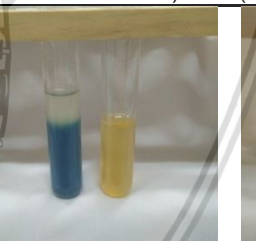
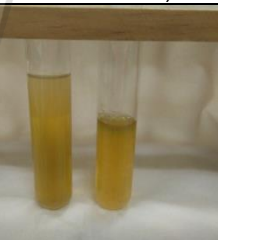
Tabel 12. Hasil pengujian Gram dengan pewarnaan pada bakteri

No	Isolat I 6 (Dokumentasi+Ket)	Isolat I 7 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 2 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 10 (Dokumentasi+Ket)
1				
	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif


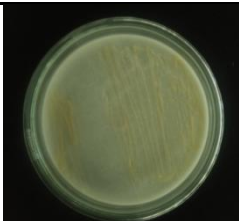
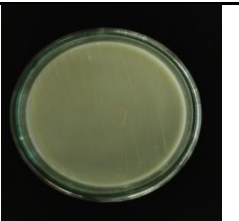

Tabel 13. Hasil pengujian Gram dengan kelarutan KOH 3%

No	Isolat I 6 (Dokumentasi+Ket)	Isolat I 7 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 2 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 10 (Dokumentasi+Ket)
1				
	Berlendir	Berlendir	Berlendir	Berlendir

Tabel 14. Hasil pengujian Oksidatif Fermentatif

No	Isolat I 6 (Dokumentasi+Ket)	Isolat I 7 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 2 (Dokumentasi+Ket)	Isolat T 10 (Dokumentasi+Ket)
1				
	Fermentatif	Fermentatif	Oksidatif	Fermentatif

Tabel 15. Hasil pengujian pada media YDC

No	Isolat I 6 (Dokumentasi+Ket)	Isolat I 7 (Dokumentasi+Ket)	Isolat TI 2 (Dokumentasi+Ket)	Isolat TI 10 (Dokumentasi+Ket)
1				
	Putih	Kuning	Kuning	Putih